



6ª edição

FARMACOGNOSIA

*da planta
ao medicamento*



organizadores

Cláudia Maria Oliveira Simões

Eloir Paulo Schenkel

Grace Gosmann

João Carlos Palazzo de Mello

Lilian Auler Mentz

Pedro Ros Petrovick

EDITORA

DA UFSC


UFRGS
EDITORA

VISIT...

LANZAROTE
Caliente.COM



FARMACOGNOSIA

da planta ao medicamento

Autores

Alexandre Mariot
Alexandre Tosbirrico Cardoso Taketa
Amélia Terezinha Henriques
Antônio José Lapa
Berta Maria Heinzmann
Bruno Edgar Irgang
Caden Sonccar
Carlos Alberto Manssour Fraga
Cesar Cornélio Andrei
Cláudia Maria Oliveira Simões
Denise Dagnino
Dira Sonaglio
Elaine Elisabethsky
Elfriede Marianne Bacchi
Eliezer Jesus Barreiro
Eloir Paulo Schenkel
Fernando Amanry Ferreira Chiesa
Gabriela Coelho de Souza
George González Ortega
Gilsane Lino Von Poser
Grace Gosmann
Horácio Heinzen
Jan Schripsema
Jairbas Alves Montanha
João Batista Fernandes
João Carlos Palazzo de Mello
João Xavier de Araújo Jr.
Jorge Alejandro Palermo
José Angelo Silveira Zuanaçzi
José Carlos Tavares Carvalho
José Maria Barbosa Filho
Leandro Machado Rocha
Lilian Anler Mentz

Luís Carlos Marques
Mareni Rocha Farias
Margareth Linde Atheyde
Maria Renata de Mello Bonfanti Borin
Maria Tereza Rizzo Lima-Landman
Marlene Zannin
Maurício Sedrez Dos Reis
Miguel Pedro Guerra
Miriam de Barcellos Falkenberg
Monstapha Bah
Otto Richard Gottlieb
Patrick Moyna
Paulo Cezar Vieira
Paulo Roberto Hriborowitsch Moreno
Pedro Ros Petrovick
Raquel Bridi
Renata Pereira Limberger
Ricardo Machado Kuster
Ricardo A. Villatoro-Vera
Rogelio Pereda-Miranda
Rosana Isabel Dos Santos
Rosely Oliveira Godinho
Rubens Onofre Nodari
Sérgio Augusto de Loretto Bordignon
Stela Maris Kitz Rates
Suzana da Costa Santos
Suzelei de Castro França
Therêza Christina Monteiro de Lima Nogueira
Valquiria Linck Bassani
Vitor Alberto Kerber
Volker Spitzer
Walter Steenböck

EDITORA

DA UFSC


UFRGS
EDITORA

ISBN 978-85-328-0395-5
Editora da UFSC



ISBN 978-85-7025-927-1
Editora da UFRGS





**UNIVERSIDADE
FEDERAL DO RIO
GRANDE DO SUL**

Reitor
José Carlos Ferraz Hennemann

Vice-Reitor e Pró-Reitor
de Coordenação Acadêmica
Pedro Cezar Dutra Fonseca

EDITORA DA UFRGS

Diretora
Jusamara Vieira Souza

Conselho Editorial
Cassilda Golin Costa
Cornelia Eckert

Eduardo Ernesto Filippi
Flávio Anastácio de O. Camargo
Iara Conceição Bitencourt Neves

José Roberto Iglesias
Léa Sílvia dos Santos Masina

Mônica Ziefinsky
Neusa Ribeiro Bianchi
Nalú Farenzena

Sílvia Regina Ferraz Petersen
Jusamara Vieira Souza, presidente



**UNIVERSIDADE FEDERAL
DE SANTA CATARINA**

Reitor
Lúcio José Botelho

Vice-Reitor
Ariovaldo Bolzan

EDITORA DA UFSC

Diretor Executivo
Alcides Buss

Conselho Editorial
Eunice Sueli Nodari, presidente
Cornélio Celso de Brasil Camargo

Carmen Sílvia Rial
João Hernesto Weber
José Rubens Murato Leite
Maria Cristina Marino Calvo
Nilcéa Lemos Pelandré
Regina Carvalho

Editora da UFRGS
Rua Ramiro Barcelos, 2500
Porto Alegre, RS – 90003-5003
fone/fax (51) 3308-5645
editora@ufrgs.br
www.editora.ufrgs.br

Editora da UFSC
Campus Universitário - Trindade
Caixa Postal 476
Florianópolis, SC – 88010-970
Fones (48) 3721-9408, 3721-9605
e 3721-9686 – Fax (48) 3721-9680
edufsc@editora.ufsc.br
www.editora.ufsc.br

FARMACOGNOSIA

da planta ao medicamento

Sexta Edição

organizadores

Cláudia Maria Oliveira Simões

Eloir Paulo Schenkel

Grace Gosmann

João Carlos Palazzo de Mello

Lilian Auler Mentz

Pedro Ros Petrovick

EDITORA

DA UFSC


UFRGS
EDITORA

© dos autores
1ª edição: 1999

Direitos reservados desta edição:
Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Universidade Federal de Santa Catarina

Capa: Vera Lúcia Gliese
Fotografia Mario Bitt-Monteiro - Fabico/UFRGS

Revisão: Maria Lúcia Barbará
Rosângela de Mello

Editoração eletrônica: Fernando Piccinini Schmitt

F233 Farmacognosia: da planta ao medicamento / organizado por Cláudia Maria Oliveira Simões ... [et al.]. – 6.ed. – Porto Alegre: Editora da UFRGS; Florianópolis: Editora da UFSC, 2007.
1104p. : il. ; 16X23cm.

Inclui referências.

Inclui índice remissivo.

Inclui índice de nomes científicos.

1. Botânica. 2. Farmacologia. 3. Farmacognosia. 4. Medicamentos – Origem vegetal. 5. Plantas medicinais. 6. Plantas tóxicas. 7. Fármacos medicinais. 8. Biodiversidade. 9. Quimiosistemática. 10. Etnofarmacologia. 11. Fitoquímica. 12. Fitoterápicos – Produção – Controle de qualidade. 13. Metabolismo vegetal. 14. Óleos voláteis. 15. Alcalóides. 16. Flavonóides. 17. Saponinas. 18. Cumarinas. 19. Produtos naturais. I. Simões, Cláudia Maria Oliveira. II. Schenkel, Eloir Paulo. III. Gosmann, Grace. IV. Mello, João Carlos Palazzo de. V. Mentz, Lillian Auler. VI. Petrovick, Pedro Ros. VII. Título.

CDU 615.322

CIP-Brasil. Dados Internacionais de Catalogação na Publicação.
(Ana Lucia Wagner – CRB10/1396)

ISBN 978-85-7025-927-1 (Editora da UFRGS)
ISBN 978-85-328-0395-5 (Editora da UFSC)

SUMÁRIO

Apresentação	7
Nota da quinta edição	9
Parte I – Biodiversidade e matérias-primas farmacêuticas	
Capítulo 1 – Biodiversidade: aspectos biológicos, geográficos, legais e éticos <i>Miguel Pedro Guerra e Rubens Onofre Nodari</i>	13
Capítulo 2 – Aspectos genéticos e moleculares da produção vegetal <i>Rubens Onofre Nodari e Miguel Pedro Guerra</i>	29
Capítulo 3 – Diversidade e domesticação de plantas medicinais <i>Maurício Sedrez dos Reis, Alexandre Mariot e Walter Steenbock</i>	45
Capítulo 4 – Diversidade biológica e sistemas de classificação <i>Gilsane Lino von Poser e Lilian Auler Mentz</i>	75
Capítulo 5 – Quimiosistemática como ferramenta na busca de substâncias ativas <i>Otto Richard Gottlieb e Maria Renata de M. B. Borin</i>	91
Capítulo 6 – Etnofarmacologia como ferramenta na busca de substâncias ativas <i>Elaine Eltsabersky e Gabriela Coelho de Souza</i>	107
Capítulo 7 – Abordagens biotecnológicas para a obtenção de substâncias ativas <i>Suzelei de Castro França</i>	123
Capítulo 8 – O uso de produtos naturais vegetais como matérias-primas vegetais para a síntese e planejamento de fármacos <i>Eliezer J. Barreiro, Carlos A. M. Fraga e João Xavier de Araújo Jr.</i>	147
Capítulo 9 – Nomenclatura botânica, classificação e identificação de plantas medicinais <i>Lilian Auler Mentz e Sérgio Augusto de Loreto Bordignon</i>	211
Capítulo 10 – Introdução à análise fitoquímica <i>Miriam de Barcellos Falkenberg, Rosana Isabel dos Santos e Cláudia Maria Oliveira Simões</i>	229
Capítulo 11 – Farmacologia e toxicologia de produtos naturais <i>Antonio José Lapa, Caden Souccar, Maria Teresa R. Lima-Landman, Rosely Oliveira Godinho e Thereza Christina M. de Lima Nogueira</i>	247
Capítulo 12 – Avaliação da qualidade de matérias-primas vegetais <i>Mareni Rocha Farias</i>	263
Capítulo 13 – Desenvolvimento tecnológico e produção de fitoterápicos <i>Diva Sonaglio, George González Ortega, Pedro Ros Petrovick e Valquiria Linck Bassani</i>	289
Capítulo 14 – Normatização da produção e comercialização de fitoterápicos no Brasil <i>Luís Carlos Marques e Pedro Ros Petrovick</i>	327
Capítulo 15 – Produtos de origem vegetal e o desenvolvimento de medicamentos <i>Eloir Paulo Schenkel, Grace Gosmann e Pedro Ros Petrovick</i>	371
Parte II – Grupos de metabólitos vegetais	
Capítulo 16 – Metabolismo básico e origem dos metabólitos secundários <i>Rosana Isabel dos Santos</i>	403
Capítulo 17 – Lípidos: química y productos naturales que los contienen <i>Patrick Moyna e Horacio Heinzen</i>	435

Capítulo 18 – Óleos voláteis	467
<i>Cláudia Maria Oliveira Simões Volker Spitzer</i>	
Capítulo 19 – Polissacarídeos	497
<i>Gilsane Lino von Poser</i>	
Capítulo 20 – Compostos fenólicos simples e heterosídicos	519
<i>José Carlos Tavares Carvalho, Grace Gosmann e Eloir Paulo Schenkel</i>	
Capítulo 21 – Cumarinas, cromonas e xantonas	537
<i>Ricardo Machado Kuster e Leandro Machado Rocha</i>	
Capítulo 22 – Lignanas, neolignanas e seus análogos	557
<i>José Maria Barbosa Filho</i>	
Capítulo 23 – Flavonóides	577
<i>José Angelo Silveira Zuanazzi e Jurbas Alves Montanha</i>	
Capítulo 24 – Taninos	615
<i>Suzana da Costa Santos e João Carlos Palazzo de Mello</i>	
Capítulo 25 – Quinonas	657
<i>Miriam de Barcellos Falkenberg</i>	
Capítulo 26 – Heterosídeos cardioativos	685
<i>Stela Maris Kuze Rates e Raquel Bridi</i>	
Capítulo 27 – Saponinas	711
<i>Eloir Paulo Schenkel, Grace Gosmann e Margareth Linde Athayde</i>	
Capítulo 28 – Compostos com enxofre	741
<i>Berta Maria Heinzmann</i>	
Capítulo 29 – Alcalóides: generalidades e aspectos básicos	765
<i>Amélia Teresinha Henriques, Renata P. Limberger, Vitor Alberto Kerber e Paulo Roberto Hrihorowitsch Moreno</i>	
Capítulo 30 – Alcalóides tropânicos	793
<i>Elfriede Marianne Bacchi</i>	
Capítulo 31 – Alcalóides indólicos	819
<i>Jan Schripsema, Denise Dagnino e Grace Gosmann</i>	
Capítulo 32 – Alcalóides pirrolizidínicos	847
<i>Moustapha Bah Rogelio e Pereda-Miranda</i>	
Capítulo 33 – Alcalóides esteroidais	869
<i>Fernando A. Ferreira Chiesa e Patrick Moyna</i>	
Capítulo 34 – Metilxantinas	885
<i>Stela Maris Kuze Rates</i>	
Capítulo 35 – Plantas inseticidas	903
<i>Paulo Cezar Vieira, João Batista Fernandes e Cesar Cornélio Andrei</i>	
Capítulo 36 – Alucinógenos naturais: etnobotânica e psicofarmacologia	919
<i>Rogelio Pereda-Miranda, Alexandre T. Cardoso Takeia e Ricardo A. Villasoro-Vera</i>	
Capítulo 37 – Plantas tóxicas	959
<i>Eloir Paulo Schenkel, Marlene Zannin, Lilian Auler Mentz, Sérgio Augusto de Loreto Bordignon e Bruno Irgang</i>	
Capítulo 38 – Productos naturales de origen marina	995
<i>Jorge Alejandro Palermo</i>	
Índice remissivo	1045
Índice de nomes científicos	1087
Autores	1097

APRESENTAÇÃO

A idéia de "Farmacognosia: da Planta ao Medicamento" partiu, inicialmente, da constatação da evolução da produção de conhecimento científico relevante sobre plantas medicinais, em especial da flora sul-americana, nestes últimos anos. Isso, sem dúvida, é resultado dos esforços destinados à formação de recursos humanos qualificados. A continuidade do desenvolvimento da área, através do repasse de conhecimentos e treinamento de pessoas especializadas, se constitui num desafio constante e numa responsabilidade inerente ao meio científico-acadêmico. Nesse processo de formação, livros básicos elaborados em cada país, considerando características e produção científica próprias são instrumentos indispensáveis ao processo de ensino-aprendizagem, tanto na formação de profissionais como de pesquisadores. Esperamos, com este livro, poder preencher uma lacuna como suporte às atividades de ensino de graduação e pós-graduação nas áreas relacionadas com plantas medicinais. O conhecimento das matérias-primas vegetais de importância terapêutica é o objetivo central da Farmacognosia, disciplina que tem sofrido modificações consideráveis nas últimas décadas, a ponto de receber, em alguns países, uma nova denominação: **Biologia Farmacêutica**. Da simples descrição das plantas utilizadas medicinalmente, a Farmacognosia tornou-se uma disciplina que integra conhecimentos das mais diversas áreas. A própria evolução dos conceitos de planta medicinal e medicamento fitoterápico traduz esse desenvolvimento, que levou a uma abordagem interdisciplinar no estudo de vegetais como fornecedores de matérias-primas de interesse terapêutico. Como ponto de partida dessa pesquisa, a etnofarmacologia é complementada pela quimiossistemática, pela bioquímica vegetal e pelo emprego de novas metodologias de análise química e farmacológica. A importância da biodiversidade e a necessidade de preservação dos recursos naturais conduziram a modificações drásticas no modo de pensar nas sociedades. Melhoramentos genéticos e estudos agrônômicos passaram a ter como objetivos não somente o rendimento por superfície cultivada, mas também a otimização da composição química e da atividade biológica. Por outro lado, estudos farmacológicos têm gerado novos conhecimentos para plantas de emprego tradicional, que estão obrigando à revisão do seu uso. A normatização do registro de medicamentos de origem vegetal junto aos organismos governamentais de vigilância sanitária, por sua vez, produziu uma nova série de exigências, relacionadas com a comprovação da eficácia, segurança e especificação da qualidade, que envolvem aspectos da matéria-prima, do processamento tecnológico e do produto final.

Essas novas informações implicam a reatualização e a revisão de conceitos e conteúdos sob um prisma abrangente. Esse também é um dos objeti-

PARTE I

**Biodiversidade
e matérias-primas farmacêuticas**

BIODIVERSIDADE: ASPECTOS BIOLÓGICOS, GEOGRÁFICOS, LEGAIS E ÉTICOS

AUTORES

Miguel Pedro Guerra
Rubens Ochofe Nodari

SUMÁRIO DO CAPÍTULO

1. Biodiversidade fitoterápicos e fitofármacos
2. Biodiversidade: perda, conservação, acesso e sustentabilidade
3. Propriedade intelectual
4. Condições éticas
5. Referências bibliográficas
6. Sugestões para leitura

1. BIODIVERSIDADE, FITOTERÁPICOS E FITOFÁRMACOS

Biodiversidade pode ser definida como a variedade e variabilidade existentes entre organismos vivos e as complexidades ecológicas nas quais eles ocorrem! Ela pode ser entendida como uma associação de vários componentes hierárquicos: ecossistemas, comunidades, espécies, populações e genes em uma área definida (Dobson, 1996)! Uma das principais características da biodiversidade é a distribuição relativa desigual dos seus componentes no espaço geográfico, significando que a abundância de espécies é variável em um determinado ambiente e que existem gradientes geográficos da biodiversidade. A implicação óbvia disso relaciona-se com a necessidade de serem tomadas medidas urgentes para a conservação dos ecossistemas nos quais as diferentes espécies ocorrem e interagem.

Os componentes da biodiversidade podem fornecer uma ampla gama de produtos de importância econômica. Dentre eles destacam-se os fitoterápicos e os fitofármacos, originados dos recursos genéticos vegetais. Fitoterápicos são aqueles medicamentos preparados exclusivamente a base de plantas medicinais. Este é o caso da sete-sangrias (*Cuphea carthagenensis* (Jacq.) J. F. Macbr.) e da espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reissek). Fitofármacos são substâncias extraídas de plantas, que apresentam atividades(s) farmacológica(s), podendo ter aplicação terapêutica. É o caso do jaborandi (*Pi-*

locarpus spp.), cujas folhas produzem a pilocarpina, substância ativa usada para o tratamento do glaucoma.

A magnitude da biodiversidade brasileira não é conhecida com precisão tal a sua complexidade, estimando-se a existência de mais de dois milhões de espécies distintas de plantas, animais e microorganismos. O Brasil é o país com a maior diversidade genética vegetal do mundo, contando com mais de 55.000 espécies catalogadas (Dias, 1996) de um total estimado entre 350.000 e 550.000. Considerando-se que mais da metade dessas espécies se encontra nas florestas tropicais, cuja área corresponde a apenas 7% da superfície da terra (Soejarto, 1996), essas regiões devem ser consideradas como prioritárias no estabelecimento de programas de conservação *in situ* de germoplasma vegetal.

O maior número de espécies vegetais encontra-se nas regiões equatoriais da América do Sul, da África e da Ásia e o máximo de diversidade global encontra-se na flora da Colômbia, Equador e Peru, onde mais de 40.000 espécies ocorrem em uma área de apenas 2% da superfície terrestre. O máximo valor para a diversidade de espécies florestais foi encontrado na floresta úmida em Iquitos, no Peru, onde Gentry (1988) registrou a existência de 300 espécies por hectare. Para se ter uma idéia comparativa desses valores, basta lembrar que, em todo o território dos Estados Unidos e Canadá, a magnitude da diversidade genética vegetal nativa limita-se a 700 espécies (Wilson, 1992).

As oportunidades para a identificação de produtos com possível utilização econômica aumentam com a diversidade das espécies. Alcalóides vegetais têm se mostrado especialmente efetivos em seus efeitos medicinais e se encontram amplamente distribuídos em muitas espécies de plantas tropicais, exercendo papel importante como substâncias de defesa contra insetos herbívoros (Levin, 1976). Um exemplo elucidativo é o de *Catharanthus roseus* (L.) G. Don, originário de Madagascar. Essa espécie é fonte de pelo menos 60 alcalóides, dos quais dois deles, a vincristina e vimbastina, são efetivos no tratamento da leucemia infantil. As vendas desses fármacos atingem valores anuais de US\$ 160 milhões (Shiva, 1990). Duas outras espécies têm sido alvo de grande interesse pela indústria farmacêutica mundial. O teixo-do-pacífico (*Taxus brevifolia* Nutt.), do qual é extraído o paclitaxel, apresenta atividade anticancerígena em tumores de ovário e seios e *Camptotheca acuminata* Decne., que apresenta atividade antibiótica, antitumoral e antiviral (Wall e Wani, 1996) (ver capítulo "Produtos vegetais e o desenvolvimento de medicamentos"). Inúmeros outros exemplos de utilização e de apropriação da diversidade genética vegetal são apresentados e discutidos por Burton et al. (1992).

As plantas são uma fonte importante de produtos naturais biologicamente ativos, muitos dos quais se constituem em modelos para a síntese de um grande número de fármacos. Pesquisadores da área de produtos naturais mostram-se impressionados pelo fato desses produtos encontrados na natureza revelarem uma

gama quase que inacreditável de diversidade em termos de estrutura e de propriedades físico-químicas e biológicas (Wall e Wani, 1996). Apesar do aumento de estudos nessa área, os dados disponíveis revelam que apenas 15 a 17% das plantas foram estudadas quanto ao seu potencial medicinal (Soejarto, 1996).

De forma similar aos microorganismos, as plantas produzem uma grande diversidade de compostos químicos. Marles e Farnsworth (1995) elaboraram uma lista de aproximadamente 1.200 espécies de plantas, pertencentes a 190 famílias, que apresentam atividade hipoglicemiante, das quais 290 espécies são consideradas tóxicas. As plantas pertencentes ao gênero *Phyllanthus* (Euphorbiaceae) compreendem cerca de 550 a 750 espécies distribuídas nos países tropicais e subtropicais. Cerca de 200 espécies ocorrem principalmente no Brasil e no Caribe. Plantas desse gênero têm sido empregadas na medicina popular para o tratamento de cálculos renais e urinários, infecções intestinais, diabetes e hepatite. Alguns dos constituintes isolados dessas plantas, como os flavonóides, taninos, alcalóides, cumarinas, lignanas e terpenos parecem ser os principais responsáveis pelas ações analgésica, antiinflamatória, antiviral, hipoglicemiante, antiespasmódica e antialérgica das mesmas (Calixto et al., 1997).

Ao se considerar a perspectiva de obtenção de novos fármacos, dois aspectos distinguem os produtos de origem natural dos sintéticos: a diversidade molecular e a função biológica. A diversidade molecular dos produtos naturais é muito superior àquela derivada dos processos de síntese, que, apesar dos avanços consideráveis, ainda é limitada. Além disso, como produtos de organismos que possuem muitas similaridades com o metabolismo dos mamíferos, os produtos naturais muitas vezes exibem propriedades adicionais às antimicrobianas a eles associadas (Nisbet e Moore, 1997).

As informações existentes sobre a magnitude do mercado de compostos de origem vegetal são pouco precisas. Por um lado, afirma-se que o mercado mundial de drogas de origem vegetal é estimado em US\$ 12,4 bilhões, sendo o consumo da Europa responsável por aproximadamente 50% deste mercado. Fitoterápicos e fitofármacos são responsáveis por 25% do receitaário médico nos países desenvolvidos e cerca de 80% nos países em desenvolvimento. Nos EUA, no período de 1983 a 1994, dos 520 fármacos aprovados pela *Food and Drug Administration* (FDA), 157 (30%) eram produtos naturais ou seus derivados. Nesse mesmo período, 61% dos fármacos anticancerígenos eram também derivados de produtos naturais (Cragg et al., 1997). No oeste da África, mais de 5.000 espécies são empregadas como plantas medicinais pela população rural, estimando-se que das 10.000 espécies encontradas neste continente, muitas sintetizam compostos com atividade anticarcinogênica (Malo e Roy, 1996). Outras estimativas revelam que o mercado mundial de produtos farmacêuticos movimenta US\$ 320 bilhões/ano, dos quais US\$ 20 bilhões são originados de substâncias ativas derivadas de plantas (Robbers et al., 1996).

No Brasil, estima-se que 25% dos US\$ 8 bilhões de faturamento, em 1996, da indústria farmacêutica nacional sejam originados de medicamentos derivados de plantas. Apenas 8% das espécies vegetais da flora brasileira foi estudada em busca de compostos bioativos e 1.100 espécies vegetais foram avaliadas em suas propriedades medicinais (Garcia et al., 1996). Destas, 590 plantas foram registradas no Ministério da Saúde para comercialização (Ortega et al., 1989).

A partir do final do século XIX, os avanços na química orgânica possibilitaram modificar a estrutura dos produtos naturais, tendo em vista um aumento na atividade ou seletividade e a redução dos efeitos colaterais ou a toxicidade. O ácido acetilsalicílico, que recentemente celebrou 100 anos, foi um dos primeiros produtos com estrutura química modificada (Cordell, 2000).

As informações anteriores revelam a necessidade de se buscar alternativas para superar a dependência externa, principalmente quando se confrontam os altos preços médios praticados no Brasil em comparação com aqueles praticados nos países desenvolvidos. O panorama brasileiro nessa área mostra que 84% de todos os fármacos são importados e que 78% da produção brasileira é feita por empresas multinacionais (Bermudez, 1995).

! Nesse quadro, confronta-se um hemisfério norte rico em tecnologia, mas pobre em recursos genéticos e um hemisfério sul pobre em tecnologia, mas riquíssimo em diversidade biológica. Estima-se que um gene potencialmente útil originado na biodiversidade do hemisfério sul pode representar negócios de US\$ 1 bilhão no norte e que o germoplasma vegetal do sul contribua com valores estimados em US\$ 66 bilhões por ano somente na economia dos EUA (Machado, 1996).

2. BIODIVERSIDADE: PERDA, CONSERVAÇÃO, ACESSO E SUSTENTABILIDADE

Brasil, México, Equador, Colômbia, Peru, China, Malásia, Índia, Indonésia, Zaire, Madagascar e Austrália são considerados países detentores de megadiversidade. Dados do *World Resources Institute* demonstram que essa biodiversidade encontra-se seriamente ameaçada. O ritmo atual de extinção de plantas já é entre 50 e 100 vezes maior que as taxas médias observadas no passado mais próximo. Estima-se que, sem a ação antrópica, uma espécie viva entre um e dez milhões de anos e que, mantido o ritmo atual, até o ano 2015 podem desaparecer entre 4 e 8% de todas as espécies vivas presentes nas florestas tropicais. Especificamente para plantas, esses valores correspondem a 15 milhões de hectares por ano, o que significa uma perda de aproximadamente 1% ao ano, já que restam no planeta cerca de 1,7 bilhões de hectares de florestas tropicais. A América do Sul detém 52% destas florestas e, somente na década de 80, o Brasil respondeu por 28% das perdas das florestas tropi-

cais e por 14% dos outros tipos de florestas. Considera-se que, mantendo o ritmo atual de devastação nos trópicos, a quase totalidade de suas florestas serão eliminadas nas áreas não protegidas até o ano 2100. Por outro lado, os estudos da capacidade regenerativa indicam que, mesmo ocorrendo uma paralisação total na perda da biodiversidade, o planeta necessitaria de milhões de anos para recuperar sua diversidade biológica por meio de mecanismos evolutivos (Soulé, 1991).

As principais causas da perda da diversidade genética têm sido associadas à destruição e à fragmentação dos ecossistemas e aos estresses ambientais como a poluição e as mudanças climáticas globais (Baur e Schmid, 1996). A preocupante taxa de extinção de espécies vegetais leva à necessidade de se considerar urgente o estabelecimento de políticas e ações de conservação e, ao mesmo tempo, de se obter grandes quantidades de matéria-prima vegetal para a obtenção de substâncias dela derivadas (Borris, 1996).

Esse quadro sintético e nada otimista demonstra que é necessário estabelecer estratégias para caracterizar e conservar a diversidade genética vegetal *in situ*. Se considerarmos um cromossomo como uma associação temporária de alelos específicos, no caso da conservação genética *ex situ*, a intensidade de conservação é parcial, uma vez que ela está parcialmente congelada. Já, em condições naturais, a cada rodada reprodutiva ocorrem recombinações, rearranjos e mutações em taxas maiores do que aquelas que ocorrem nas condições *ex situ*. Além disso, é importante considerar que, em muitos casos, quando se considera a complexidade de ecossistemas tropicais, ocorrem nas condições *in situ* interações complexas entre os componentes desse ecossistema que não são passíveis de serem reconstituídas nas condições *ex situ*. Um exemplo ilustrativo dessa situação ocorre com a família Bromeliaceae no domínio da Mata Atlântica. Em outros casos, a interação genótipo-habitat é tão elevada que algumas espécies não sobrevivem em ambientes degradados ou com menor complexidade (palmitreiro *versus* fauna dispersora de sementes, por exemplo). Isso quer dizer que, em muitos casos, mais importante do que conservar um germoplasma específico, é necessário estabelecer estratégias para a conservação de todo o ecossistema.

Um aspecto menos discutido na questão da devastação das florestas tropicais refere-se à perda do conhecimento, acumulado por milênios, sobre o uso medicinal tradicional das plantas destas florestas pelas populações a elas associadas. Essa devastação provoca a migração dessas comunidades, normalmente para centros urbanos, provocando o rompimento do fluxo de conhecimento adquirido e acumulado ao longo do tempo. Schultes (1994) chamou esse processo de *queima da biblioteca*, propondo a conservação etnobotânica como uma forma de proteger o conhecimento dessas comunidades sobre o uso de plantas medicinais.

Wilson (1992) foi o principal responsável pela popularização do termo

biodiversidade, estabelecendo também um plano de cinco pontos a ela relacionado: a) caracterização dos componentes da biodiversidade; b) geração da riqueza a partir destes componentes; c) promoção do desenvolvimento sustentável; d) conservação da biodiversidade remanescente; e) restauração da biodiversidade em áreas degradadas.¹ Gottlieb et al. (1996) observaram que, no Brasil, a biodiversidade e especialmente o seu componente vegetal é considerada fonte importante de riqueza e que qualquer retribuição durável em benefícios sociais dependerá do uso sustentável da biodiversidade, ou seja, a manutenção de um equilíbrio entre a exploração e a substituição. Processos exploratórios que excedem a capacidade regenerativa natural não podem ser considerados sustentáveis (Gottlieb e Borin, 1997).

A Convenção da Diversidade Biológica (CDB) foi assinada durante a Conferência das Nações Unidas sobre Meio Ambiente e Desenvolvimento (Eco-92), realizada na cidade do Rio de Janeiro de 5 a 14 de junho de 1992. Essa convenção foi ratificada pelo parlamento brasileiro em 29.12.1994 e contava, em agosto de 1996, com 149 ratificações. De forma resumida, como definido no Art. 1º, *os objetivos desta Convenção são a conservação da diversidade biológica, a utilização sustentável de seus componentes e a repartição justa e equitativa dos benefícios derivados da utilização dos recursos genéticos, mediante, inclusive, o acesso adequado aos recursos genéticos e a transferência adequada de tecnologias pertinentes, levando em conta todos os direitos sobre tais recursos e tecnologias mediante o financiamento adequado.* Acesso pode ser entendido como o estudo e o uso dos componentes da biodiversidade e, como pontuado por Arcanio (1997), as implicações do termo acesso podem ser analisadas sob três diferentes contextos: acesso aos recursos genéticos, acesso à tecnologia e acesso aos benefícios advindos do uso da biodiversidade. É importante notar que, por influência dos países do hemisfério sul, a biodiversidade deixou de ser *patrimônio comum da humanidade* e passou a ser *preocupação comum da humanidade*. Além disso, a CDB passou a reconhecer os *direitos soberanos dos Estados sobre seus recursos biológicos*.

As propostas mais recentes de se regulamentar o acesso à biodiversidade brasileira surgiram na Constituição de 1988. No seu Cap. VI, Art. 225, Inc. II é estabelecida a incumbência do poder público para *preservar a diversidade e integridade do patrimônio genético do país e fiscalizar as entidades dedicadas à pesquisa e manipulação do material genético*. O projeto de lei do Senado nº 306, de 1995, de autoria da Sen. Marina da Silva (AC), em tramitação no Congresso Nacional, por meio de um substitutivo do Sen. Osmar Dias (PR), dispõe sobre os instrumentos de controle do acesso aos recursos genéticos do país. Esse projeto regula direitos e obrigações relativos ao acesso aos recursos genéticos, material genético e produtos derivados, em condições *ex situ* ou *in situ*, existentes no território nacional, dos quais o Brasil é o país de origem. Regula também aspectos associados aos conhecimentos tradicionais

de populações indígenas e comunidades locais, em relação aos recursos genéticos ou produtos derivados e aos cultivos agrícolas domesticados no Brasil. No seu Art. 14 fica estabelecido que *toda e qualquer procedimento de acesso a recursos genéticos em território brasileiro, em condições in situ, dependerá de autorização prévia pela autoridade competente e da assinatura e publicação de contrato entre a autoridade competente e as pessoas físicas ou jurídicas interessadas*, sendo consideradas partes no contrato de acesso: a) o Estado, representado pela autoridade competente; b) o solicitante do acesso; c) a agência de acesso; d) o provedor do conhecimento tradicional ou do cultivo agrícola domesticado, no caso de contratos de acesso que envolvam estes componentes.

Em 29 de junho de 2000 foi editada a medida provisória nº 2.052, dispondo sobre o acesso ao patrimônio genético, a proteção e o acesso ao conhecimento tradicional associado, a repartição de benefícios e o acesso à tecnologia e a transferência de tecnologia para sua conservação e utilização. Nessa norma, patrimônio genético é definido como sendo a informação de origem genética, contida no todo ou em parte de espécime vegetal, fúngico, microbiano ou animal, em substâncias provenientes do metabolismo desses seres vivos e de extratos obtidos desses organismos vivos ou mortos, encontrados em condições *in situ*, inclusive domesticada, ou mantidos em coleções *ex situ*, desde que coletados em condições *in situ*, no território nacional, na plataforma continental ou na zona econômica exclusiva. E conhecimento tradicional associado foi definido como a informação ou prática individual ou coletiva de comunidade indígena ou comunidade local, com valor real ou potencial, associada ao patrimônio genético.

Esta MP foi reeditada várias vezes, sendo que a de número 2.126 cria o Conselho de Gestão do Patrimônio Genético, no âmbito do Ministério do Meio Ambiente, composto de representantes de órgãos e de entidades da Administração Pública Federal que detêm competência legal sobre as diversas ações de que trata essa Medida Provisória, com várias finalidades, destacando-se as de: a) coordenar a implementação de políticas para a gestão do patrimônio genético; b) estabelecer normas técnicas, critérios para as autorizações de acesso e de remessa e diretrizes para elaboração do Contrato de Utilização do Patrimônio Genético e de Repartição de Benefícios; c) deliberar sobre autorização de acesso e de remessa de amostra de componente do patrimônio genético, mediante anuência prévia de seu titular e autorização de acesso a conhecimento tradicional associado, mediante anuência prévia de seu titular; d) dar anuência aos Contratos de Utilização do Patrimônio Genético e de Repartição de Benefícios quanto ao atendimento dos requisitos previstos nesta Medida Provisória e no seu regulamento.

Há, hoje, no Brasil, um certo consenso de que toda a discussão sobre esses aspectos deve estar baseada em seis pontos fundamentais: a) a defini-

ção precisa sobre o uso sustentável dos recursos genéticos; b) os aspectos associados à conservação de germoplasma *ex situ* e *in situ*; c) os aspectos associados à soberania; d) as questões contratuais; e) a transferência de tecnologia e f) a proteção do conhecimento indígena.

Com relação às questões contratuais para a prospecção da biodiversidade existem várias possibilidades de acordos, principalmente quando se consideram as relações desiguais, já mencionadas, entre um hemisfério norte rico em recursos financeiros e tecnologias e um hemisfério sul rico em diversidade genética e pobre em recursos financeiros e tecnologias. Esses acordos têm sido feitos baseados em expedições conjuntas entre cientistas dos países ou companhias interessadas e cientistas dos países hospedeiros, ou então baseados em contratos, em que são especificadas as condições de coleta e de repartição dos benefícios advindos das eventuais descobertas posteriores.

Um estudo de caso sobre os contratos de acesso dos componentes da biodiversidade e que vem sendo acompanhado com interesse nas relações hemisfério sul e norte é o que ocorreu entre o Instituto Nacional da Biodiversidade (INBio) da Costa Rica e a indústria químico-farmacêutica Merck. Por esse acordo, o INBio fornece plantas para a Merck proceder avaliações quanto à existência de substâncias naturais potencialmente bioativas. O contrato estabeleceu formas de compensação, sendo que uma delas determinou que 10 % do orçamento total do contrato seria destinado para o sistema de Parques Nacionais da Costa Rica. A Merck também instalou e equipou um laboratório junto ao INBio, no qual pesquisadores desse instituto, treinados em métodos de extração e em técnicas fitoquímicas avançadas, executam os trabalhos de extração. Publicações e patentes geradas no âmbito deste trabalho terão a co-autoria dos pesquisadores dessas duas instituições. Pelo acordo firmado, a Merck pagará royalties ao INBio pelos eventuais produtos patenteados, parte dos quais deverá ser empregado em programas de conservação genética (Borris, 1996). O acordo feito entre o INBio e a Merck tem sido alvo de críticas. Afirma-se que esse contrato prevê poucos benefícios para o INBio e para a Costa Rica em relação àqueles previstos para a Merck. Afirma-se, também, que os pesquisadores da Costa Rica cumprem o papel de meros coletores de germoplasma para os laboratórios centrais da Merck.

Críticas similares são feitas ao acordo, com validade de 20 anos e no valor de US\$ 2.2 milhões, firmado no Brasil entre o Instituto Pró-Natura e a multinacional de origem inglesa ICI, envolvendo a Cooperativa de Juruena (MT). Sérias restrições também são levantadas ao depósito de 258 microorganismos feito junto a *American Type Culture Collection* (ATCC-EUA), isolados no Brasil, que poderiam originar produtos e processos patenteáveis (Elisabetsky e Costa-Campos, 1996).

3. PROPRIEDADE INTELECTUAL

Direitos de propriedade intelectual são concedidos em reconhecimento à contribuição intelectual pela autoria de obras, pela invenção de produtos ou processos ou pela obtenção de novas cultivares agrícolas, com o propósito de criar incentivos e estimular o desenvolvimento de inovações tecnológicas, de modo a se obter retorno financeiro pelos investimentos realizados (Santos, 1996). Patente é um direito legal fornecido pelo governo para o primeiro inventor de uma nova propriedade intelectual, excluindo os outros de produzir, usar ou vender, sem sua permissão, o objeto de sua invenção por um determinado período de tempo. O que é patenteável é definido como sendo qualquer invenção de produto ou de processo, em todos os setores tecnológicos, desde que seja novo, envolva processo inventivo e seja passível de aplicação industrial.

O patenteamento de seres vivos e de processos biológicos representa um componente da estratégia que visa a garantir o ingresso e permanência de grandes empresas transnacionais em mercados emergentes e de grande potencial, como aqueles relacionados com as biotecnologias e as indústrias de sementes e farmacêutica. Outros componentes dessa estratégia são os próprios recursos biológicos e as tecnologias de ponta, entre as quais as biotecnologias (Santos, 1996). A CDB traz avanços consideráveis na questão dos recursos genéticos ao incluir a biodiversidade na sua totalidade, ao considerar todas as formas de manejo da biodiversidade e ao estabelecer instrumentos para subsidiar o planejamento e uso da biodiversidade.

Uma das prioridades da CDB é estimular treinamentos no desenvolvimento sustentado dos recursos biológicos nos países ricos em biodiversidade. Para King et al. (1996), os países tropicais apresentam diferentes capacidades no que se refere ao uso e conservação dessa biodiversidade. Em nível local, as pequenas comunidades que vivem e interagem rotineiramente com a flora e fauna circundantes, não têm sido capazes de agregar valor aos recursos biológicos. O treinamento técnico e educacional visando à coleta, identificação, inventários, avaliação e seleção de recursos florestais podem proporcionar incentivos para a exploração sustentável e para a obtenção de retornos financeiros para estas comunidades.

Embora a CDB estabeleça o princípio da repartição justa e equitativa dos benefícios gerados pelo uso dos recursos genéticos, ela não propõe os mecanismos para atingir esses objetivos. A alocação dos benefícios derivados do uso da biodiversidade deve compatibilizar as necessidades de incentivar as inovações tecnológicas, proporcionar incentivos para a conservação e recompensar as contribuições das pessoas envolvidas no uso e exploração dos recursos genéticos (Reid, 1996). Políticas adequadas deveriam promover um equilíbrio dos benefícios compensatórios entre indivíduos, comunidades e instituições envolvidas.

Duas outras leis, já em vigor, têm repercussão direta sobre a biodiversidade brasileira. A primeira delas é a Lei nº 9.279, de 14 de maio de 1996 (Lei de Patentes), que regula os direitos e obrigações relativos à propriedade industrial. Essa lei derivou das conclusões da Rodada do Uruguai do GATT (*General Agreement on Tariffs and Trade*), através do TRIPS (*Trade-related Aspects of Intellectual Property Rights*) e era antiga exigência e um dos requisitos impostos pelos países do G7 para a entrada do Brasil no mercado globalizado, decorrência do processo de abertura das economias mundiais. A Lei de Patentes passou a ter aplicação a qualquer invenção, produto ou processo, em todos os setores tecnológicos, com a finalidade de estimular a inovação tecnológica em setores estratégicos. Sua relação com a questão da biodiversidade reside na possibilidade de patenteamento de processos e produtos. Seu impacto na possibilidade de patenteamento dos componentes da biodiversidade só não foi maior pela emenda de última hora, no Art. 18, Inciso III, que define que não são patenteáveis *o todo ou parte dos seres vivos, exceto os microrganismos transgênicos que atendam aos três requisitos de patenteabilidade: novidade, atividade inventiva e aplicação industrial*.

A questão das patentes ocupou posição de destaque nos debates promovidos no âmbito da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência (SBPC) e da Associação Brasileira de Química Fina (ABIFINA). Os EUA, desde o início das negociações sobre a nova Lei de Patentes, quer no âmbito do GATT ou em discussões bilaterais, foram o principal responsável pela apresentação do Projeto de Lei nº 824/91, que dispunha sobre a Lei de Propriedade Intelectual, exercendo fortes pressões para a tramitação deste projeto ao longo dos cinco anos de discussões no Congresso Nacional (Varella, 1996). A SBPC e a ABIFINA levantaram sérias críticas ao texto aprovado, pelas concessões feitas. Entre estas, destaca-se: a) o intervalo de tempo para a implementação da lei (um ano, em relação ao período de até nove anos, previsto pelo GATT e pleiteado pela ABIFINA); b) o prazo de validade das patentes; c) a retroatividade dos efeitos, que admite patentes que tenham sido requeridas no exterior antes da vigência da lei brasileira (*Pipeline*); d) a não-obrigatoriedade da produção no país dos produtos patenteados. Sobre o prazo de reconhecimento das patentes, o GATT sugeria quatro anos, para que os países se adequassem aos termos do acordo e mais cinco anos para as patentes que ainda não eram reconhecidas, como aquelas associadas aos processos biotecnológicos. Dessa maneira, o Brasil teria até o ano 2004 para a aplicação plena da Lei de Patentes, abrindo mão, contudo, desse direito para implementar a lei em apenas um ano.

Outros países que, na mesma época, ainda não dispunham de legislação patentária, abriram discussões mais cuidadosas, deixando clara a necessidade de ter suas indústrias fortalecidas e de dominar tecnologias de ponta. Um exemplo disso é o Japão, que somente aceitou patentes depois de 1976, quando já era o segundo produtor mundial. De uma forma geral, observa-se que a

tendência dos países é a de estabelecer legislações específicas sobre o assunto, cumprindo, assim, as determinações do GATT. Contudo, essas alterações, nesses países, vêm ocorrendo de forma gradativa e buscam manter as salvaguardas específicas, aspectos estes que não aconteceram com a Lei de Patentes brasileira.

É importante notar que os produtos da diversidade biológica, na forma em que ocorrem na natureza, são considerados descobertas, não atendendo portanto, ao requisito de inventividade necessário para a obtenção de patentes. Contudo, patentes vêm sendo concedidas para inovações tecnológicas relacionadas com o todo ou parte dos seres vivos, transformados geneticamente ou não, assim como para genes ou parte deles, desde que apresentem aplicação industrial definida, sejam considerados novos e tenham sido plenamente descritos, de acordo com os requisitos legais sobre propriedade intelectual de determinado país (Santos, 1996).

O patenteamento de produtos naturais também levantou a discussão sobre o conhecimento dos povos locais e a apropriação desse conhecimento pelos cientistas e grandes companhias farmacêuticas. Há um certo consenso que aos povos indígenas devem ser destinados benefícios adequados, financeiros e na forma de co-participação em direitos de propriedade intelectual. Isso significa que uma certa percentagem dos lucros derivados dos produtos patenteados deve retornar a essas comunidades indígenas.

A outra lei com impactos na diversidade genética vegetal em cultivo é a Lei de Cultivares (Lei nº 9.456, de 25 de abril de 1997) que *assegura ao seu titular a reprodução comercial da cultivar protegida, ficando vedado a terceiros, sem sua autorização, a produção com fins comerciais, a venda ou a comercialização do material de propagação da cultivar*. Considera-se cultivar a variedade de espécie vegetal descrita em publicação especializada, disponível e acessível ao público, que seja claramente distinguível de outras cultivares conhecidas, possua denominação própria, seja homogênea e estável através de gerações sucessivas e passível de utilização. Essa lei não configura um direito tão restritivo quanto a Lei de Patentes, uma vez que é possível utilizar material protegido em programas de melhoramento e os pequenos agricultores podem utilizar material para seu uso, para doação ou troca, exclusivamente para outros pequenos produtores. No âmbito desta lei, é possível registrar ou proteger cultivares. O primeiro caso não gera direitos ao requerente mas impede que outros protejam o referido germoplasma. Já o material protegido gera direitos sobre as estruturas utilizadas na propagação.

É relevante mencionar, também, as controvérsias entre políticas de saúde e a transferência dos direitos de propriedade do setor público ao setor privado, como é o caso dos direitos exclusivos concedidos pelo governo dos EUA à Bristol-Meyers Squib para a obtenção do paclitaxel, extraído da conífera teixo-do-pacífico (*Taxus brevifolia* Nutt.) (Walsh e Goodman, 1999). Essa deci-

são provocou uma reação pública questionando os termos e consequências da transferência ao setor privado do conhecimento científico e tecnológico gerado com recursos públicos. Também, nesse caso, o conflito de interesses entre a quimioterapia e a biodiversidade torna-se exacerbado entre aqueles que buscavam a cura do câncer e aqueles preocupados em proteger uma espécie ameaçada de extinção.

A relação entre os componentes da biodiversidade e as biotecnologias deve enfatizar a aplicação das biotecnologias pertinentes. Dependendo de sua evolução e consolidação, essas técnicas poderão se tornar verdadeiras "janelas de oportunidades" para o Brasil, permitindo maior eficiência na caracterização, utilização e conservação da diversidade genética vegetal (Guerra et al., 1998). Esse aspecto já vem sendo observado em países periféricos (Bergamasco et al., 1995). Contudo, como notaram Rojas e Jaffé (1994), estas janelas de oportunidades poderão não existir por muito tempo, a menos que os países em desenvolvimento promovam condições e capacidades para, em curto espaço de tempo, utilizarem seus recursos, antes que as grandes corporações do hemisfério norte o façam. De acordo com Van de Sande (1994), o desenvolvimento de tecnologias durante a revolução verde foi um processo padronizado e unidirecional (dos pesquisadores para os agricultores) e agora ele precisa ser bidirecional. O desenvolvimento das biotecnologias deve permitir respostas à problemas regionais específicos. Por isso, o sucesso delas depende, em grande parte, do estoque de conhecimentos acumulado ao longo do tempo pelos agricultores e populações nativas sobre plantas medicinais, espécies e variedades nativas, sistemas de manejo, entre outros.

4. COMENTÁRIOS FINAIS

Uma das principais limitações até agora relacionadas com a questão dos produtos naturais como fonte de novos fármacos é a alegada complexidade do processo de avaliação, pela presença de misturas biológicas, de difícil caracterização. Entretanto, técnicas inovadoras e novos processos de engenharia vêm superando rapidamente essas limitações (Nisbert e Moore, 1997). Esses avanços científicos e tecnológicos dão suporte à necessidade de serem implantados programas mais efetivos de conservação dos recursos genéticos vegetais.

Um dos requisitos para o estabelecimento de programas de conservação de germoplasma é o conhecimento sobre a diversidade biológica, reconhecendo-se nesta cinco níveis de hierarquia: a) ecossistemas, b) associações ou comunidades, c) espécies, d) populações, e) genes (Soulé, 1991). Segundo Ehrlich e Wilson (1991), uma das razões fundamentais para estabelecer programas de conservação da diversidade biológica reside no fato de que a humanidade já obteve enormes benefícios econômicos diretos da biodiversi-

dade na forma de alimentos, medicamentos e produtos industriais, podendo obter ainda mais benefícios no futuro. A biodiversidade pode ser entendida como uma preciosa *biblioteca genética* mantida em seus ecossistemas naturais, na qual apenas uma pequena parte de seus componentes foi adequadamente estudada e cujos benefícios futuros não são ainda conhecidos. É importante mencionar também que ainda que a diversidade da flora brasileira revele ótimas oportunidades para o desenvolvimento de novos produtos medicinais, grupos brasileiros de pesquisa nesta área ainda são poucos (Brito e Nunes, 1997).

A busca de produtos comerciais derivados dos recursos genéticos tem sido chamada de bioprospecção. Ambientalistas e cientistas de países tropicais, subdesenvolvidos e detentores de grande biodiversidade vêm empregando o termo *biopirataria* para descrever este processo, afirmando que as empresas multinacionais dos países desenvolvidos exploram seus recursos genéticos, patenteiam os resultados desta exploração e vendem os produtos de volta a preços excessivos. Como discutido por Gyllenhaal e McChesney (1996), a diversidade política e cultural, presente principalmente nos países do terceiro mundo, geram diferentes perspectivas em relação aos direitos de propriedade intelectual, valor e acesso. Em consequência, o estabelecimento e harmonização de leis e convenções nacionais e internacionais, como é o caso daquelas geradas no âmbito do acordo internacional do comércio (GATT) e da CDB, terão forte influência na natureza e termos dos acordos de bioprospecção. De forma similar, a visão das companhias farmacêuticas, demais instituições e cientistas sobre o comportamento ético e sobre a repartição dos benefícios terá influência sobre os termos e condições dos acordos sobre o acesso aos recursos genéticos.

Como foi discutido anteriormente, a implementação e regulamentação da CDB é a forma mais efetiva e objetiva de tentar resolver esses conflitos. Contudo, de acordo com Nowlan (1996) ainda restam muitas questões a serem resolvidas e entre elas destacam-se as seguintes: a) como os países detentores de grande biodiversidade podem controlar e negociar o acesso aos seus recursos genéticos?; b) uma vez permitido o acesso, como a legislação pode ser empregada para assegurar que os benefícios derivados dos recursos genéticos retornem às comunidades de origem?; c) como o conhecimento das populações locais sobre os recursos genéticos e seus usos pode ser protegido?; d) as patentes, que foram desenvolvidas para proteger as invenções industriais, são a forma mais apropriada para os recursos biológicos? É necessário aprofundar essas questões e avançar nas discussões relacionadas com esse tema, para que os benefícios derivados da exploração sustentável dos componentes da biodiversidade sejam justos e equitativamente distribuídos entre as partes envolvidas.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARCANIO, F.E.M. Convenção sobre Diversidade Biológica e Projeto de Lei do Senado nº 306/95: soberania, propriedade e acesso aos recursos genéticos. *Rev. Inf. Leg.*, n. 133, p.287-301, 1997.
- BAUR, B.; SCHMID, B. Spatial and temporal patterns of genetic diversity within species. In: GASTON, K.J. *Biodiversity, a biology of numbers and differences*. Oxford: Blackwell Science, 1996. p.169-201.
- BERGAMASCO, S.P.P.; CARMO, M.S.; SALLES, J.T.A.O. Produção familiar e biotecnologia: paradoxos em discussão. In: VIEIRA, P.F.; GUERRA, M.P. *Biodiversidade, biotecnologias e desenvolvimento*. Florianópolis: UFSC, 1995. p.33-40.
- BERMUDEZ, J.A.Z. *Indústria farmacêutica, estado e sociedade*. São Paulo: Hucitec, 1995. 204p.
- BORRIS, R.P. Natural products research: perspectives from a major pharmaceutical company. *J. Ethnopharmacol.*, n. 51, p.29-38, 1996.
- BRITO, A.R.M.S.; NUNES, D.S. Ethnopharmacology and the sustainable development of new plant-derived drugs. *Ciência e Cultura*, v. 49, n. 5/6, p.402-408, 1997.
- BURTON, P.J.; BALISKY, A.C.; COWARD, L.P.; CUMMING, S.G.; KNEESHAW, D.D. The value of managing for biodiversity. *The Forest Chronicle*, n. 2, p. 225-237, 1997.
- CALIXTO, J.B.; SANTOS, A.R.S.; PAULINO, N.; CECHINEL FILHO, V.; YUNES, R. The plants of the genus *Phyllanthus* as a potential source of new drugs. *Ciência e Cultura*, v. 49, n. 5/6, p. 422-432, 1997.
- CORDELL, G.A. Biodiversity and drug discovery – a symbiotic relationship. *Phytochemistry*, v. 55, p.463-480, 2000.
- CRAGG, G.C.; NEWMAN, D.J.; SNADER, K.M. Natural products in drug discovery and development. *J. Nat. Prod.*, v. 60, p.52-60, 1997.
- DIAS, B.F.S. *A implementação da convenção sobre diversidade biológica no Brasil: desafios e oportunidades*. Campinas: André Tosello, 1996. 10p.
- DOBSON, A.P. *Conservation and biodiversity*. New York: Scientific American Library, 1996. 264p.
- EHLRICH, P.R.; WILSON, E. O. Biodiversity studies: science and policy. *Science*, n. 253, p.758-761, 1991.
- ELISABETSKY, E.; COSTA-CAMPOS, L. Medicinal plant genetic resources and international cooperation: the Brazilian perspective. *J. Ethnopharmacol.*, v. 51, p. 111-120, 1996.
- GARCIA, E.S.; SILVA, A.C.P.; GILBERT, B.; CORRÊA, C.B.V.; CAVALHEIRO, M.V.S.; SANTOS, R.R.; TOMASINI, T. *Fitoterápicos*. Campinas: André Tosello, 1996. 17p.
- GENTRY, A.H. Tree species richness of upper Amazonian forests. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, v. 85, p.156-159, 1988.
- GYLLENHAL, C.; MCCHESENEY, J.D. Intellectual property rights, natural derived bioactive compounds, and resource conservation. Meeting report. *J. Nat. Prod.*, v. 59, p.334-337, 1996.
- GOTTLIEB, O.; KAPLAN, M.A.C.; BORIN, M.R.M.B. *Biodiversidade: um enfoque químico-biológico*. Rio de Janeiro: Editora UFRJ, 1996. 267p.
- GOTTLIEB, O. R.; BORIN, M.R. DE M.B. Natural products research in Brazil. *Ciência e Cultura*, v. 49, n. 5/6, p.315-320, 1997.

- GUERRA, M.P.; NODARI, R.O.; REIS, M.S.; SCHMIDT, W. Agriculture, Biodiversity, and "Appropriate Biotechnologies" in Brazil. *Ciência e Cultura*, v. 50, p. 408-416, 1998.
- GYLLENHAAL, C.; MCCHESENEY, J.D. Intellectual property rights, natural derived bioactive compounds, and resource conservation. Meeting report. *J. Nat. Prod.*, v. 59, p. 334-337, 1996.
- KING, S.R.; CARLSON, T.J.; MORAN, K. Biological diversity, drug discovery and intellectual property rights: creating reciprocity and maintaining relationships. *J. Ethnopharmacol.*, v. 51, p. 45-57, 1996.
- LEVIN, D.A. Alkaloid-bearing plants: an ecogeographic perspective. *American Naturalist*, v. 110, p. 261-284, 1976.
- MACHADO, J. *Recursos genéticos vegetais e a empresa de sementes*. Campinas: André Tosello, 1996. 11p.
- MALO, N.N.; ROY, R. Do medicinal plants have a place in today's medicine? *Global Biodiversity*, v. 6, n. 3, p. 16-18, 1996.
- MARLES, R.J.; FARNSWORTH, N.R. Antidiabetic plants and their active constituents. *Phytotherapy*, n. 2, p. 117-189, 1995.
- NISBET, L.J.; MOORE, M. Will natural products remain an important source of drug research for the future? *Current Opinion in Biotechnology*, n. 8, p. 708-712, 1997.
- NOWLAN, L. Bioprospecting or biopiracy? *Global Biodiversity*, v. 5, n. 4, p. 24-25, 1996.
- ORTEGA, G.G.; SCHENKEL, E.P.; ATHAYDE, M.L.; MENTZ, L.A. Brasilianische Phytoterapeutika, Ihre Rolle im Arzneimittelmärkte. *Dtsch. Apoth. Ztg.*, v. 35, p. 1847-1848, 1989.
- REID, W.V. Gene co-ops and the biotrade: translating genetic resource rights into sustainable development. *J. Ethnopharmacol.*, v. 51, n. 75-92, 1996.
- ROBBERS, J.E.; SPEEDLE, M.K.; TYLER, V.E. *Pharmacognosy and Pharmacobiotechnology*. Baltimore: Williams & Wilkins, 1996. 337p.
- ROJAS, M.; JAFFÉ, W. Symposium on biodiversity, biotechnology and sustainable development. *Biotechnol. Dev. Mon.*, n. 19, p. 21-22, 1994.
- SANTOS, M.M. *Direitos de propriedade intelectual na área biológica*. Campinas: André Tosello, 1996. 9p.
- SCHULTES, R.E. Burning the library of Amazonia. *The Sciences*, March/April, p. 24-31, 1994.
- SHIVA, V. Biodiversity, biotechnology, and profit: the need for a people's plan to protect biological diversity. *The Ecologist*, v. 20, p. 44-47, 1990.
- SOEJARTO, D.D. Biodiversity prospecting and benefit sharing: perspectives from the field. *J. Ethnopharmacol.*, v. 51, p. 1-15, 1996.
- SOULÉ, M.E. Conservation: tactics for a constant crisis. *Science*, n. 253, p. 744-750, 1991.
- VAN DE SANDE, T. The politic of biotechnology. On the exposure of Trojan horses. *Biotechnol. Dev. Mon.*, n. 19, p. 24, 1994.
- VARELLA, M.D. *Propriedade intelectual de setores emergentes, biotecnologia, fármacos e informática*. São Paulo: Atlas, 1996. 255p.
- WALL, M.E.; WANI, M.C. Camptothecin and taxol: from discovery to clinic. *J. Ethnopharmacol.*, v. 51, p. 239-254, 1996.
- WALSH, V.; GOODMAN, J. Cancer chemotherapy, biodiversity, public and private property: the case of the anti-cancer drug Taxol. *Social Science & Medicine*, v. 49, p. 1215-1225, 1999.

WILSON, E.O. *The diversity of life*. Boston: Belknap, 1992. 424p.

6. SUGESTÕES PARA LEITURA

ARCANIO, F.E.M. Convenção sobre Diversidade Biológica e Projeto de Lei do Senado nº 306/95: soberania, propriedade e acesso aos recursos genéticos. *Rev. Inf. Leg.*, n. 133, p. 287-301, 1997.

BURTON, P.J.; BALISKY, A.C.; COWARD, L.P.; CUMMING, S.G.; KNEESHAW, D.D. The value of managing for biodiversity. *The Forest Chronicle*, n. 2, p.225-237, 1992.

DOBSON, A.P. 1996. *Conservation and biodiversity*. New York: Scientific American Library, 1996. 264p.

EHLRICH, P.R.; WILSON, E. O. Biodiversity studies: science and policy. *Science*, v. 253, p.758-761. 1991.

WILSON, E.O. *The diversity of life*. Boston: Belknap, 1992. 424p.

ASPECTOS GENÉTICOS E MOLECULARES DA PRODUÇÃO VEGETAL

AUTORES

Rubens Onofre Nodari
Miguel Pedro Guerra

SUMÁRIO DO CAPÍTULO

1. Introdução
2. Conceito de gene
3. Genótipo e fenótipo
4. Diversidade genética
5. Marcadores genéticos
6. Conservação genética
7. Identificação varietal
8. Melhoramento genético
9. Considerações finais
10. Referências bibliográficas
11. Sugestões para leitura

1. INTRODUÇÃO

Embora comumente é admitido que uma característica qualquer de um ser vivo é dependente da expressão de um gene num determinado ambiente, esta expressão pode ser afetada por outros genes (pleiotropia) bem como pelo processo ontológico do organismo. O problema central da biologia é que, ao contrário da física e química, nas quais um pequeno número de forças de grande magnitude domina os fenômenos, um organismo vivo é resultante de um grande número de caminhos fracos causais determinantes, fazendo com que seja extremamente difícil estabelecer explicações completas (Lewontin, 2000). Este autor afirma ainda que um organismo vivo é a consequência única da sua ontogênese, a qual resulta de interações de forças internas e externas.

A identificação do número de genes e do tipo de ação gênica de uma característica determinada é de fundamental importância para o avanço no conhecimento científico e a geração de processos e produtos resultantes de sua manipulação.

Os avanços científicos na área da biologia após a metade do século XX proporcionaram o desenvolvimento de dezenas de técnicas biotecnológicas, que estão facilitando a realização de estudos de genética e de melhoramento de plantas. Nesse contexto, podem ser empregadas ferramentas biotecnológicas associadas ao uso de marcadores moleculares para caracterização e monitoramento da diversidade genética, visando a sua

utilização e conservação. O estudo da estrutura genética de populações naturais e a base genética das características de interesse farmacológico são imprescindíveis para o sucesso do melhoramento destas características. A utilização de plantas medicinais como recurso terapêutico ou para o desenvolvimento de novos medicamentos, a partir das substâncias delas isoladas, ou via plantas transgênicas, tem se mostrado uma forma não convencional de produção de matérias primas vegetais, que começa a ser melhor explorada de forma mais freqüente.

Neste capítulo, serão discutidos os tópicos relacionados com gene, genótipo e fenótipo, diversidade genética, marcadores genéticos, conservação genética, identificação varietal, melhoramento genético e plantas transgênicas. Sempre que possível, os tópicos estão acompanhados de exemplos, preferencialmente com plantas medicinais ou produtos de interesse farmacológico.

2. CONCEITO DE GENE

O conceito de gene evoluiu tanto quanto a biologia. Uma das primeiras observações sobre o tema foi feita por Leonardo da Vinci que, ao analisar a cor dos filhos de mulheres brancas com homens pretos, sugeriu que a semente da mãe tinha o mesmo vigor que a do pai (Wallace, 1992). Mas foi Mendel, em 1865, quem utilizou pela primeira vez a expressão fator para os componentes hereditários parentais responsáveis pelas características nas progênies. Só mais tarde, em 1908, Johannsen sugeriu o termo *gene* para designar os fatores hereditários.

Por gene entende-se a unidade de herança. Contudo, os diferentes textos de genética apresentam diferentes conceitos para gene. Segundo a maioria dos autores, o seu principal atributo é a relação com a proteína que o codifica. Nesse caso, define-se gene como sendo um segmento de DNA que, através da intermediação de uma molécula mensageira de RNA, é responsável pela especificação de uma cadeia peptídica (Wallace, 1992). Entretanto, outros geneticistas incluem, além das proteínas, os RNA como produtos gênicos. Nesse caso, a definição de gene é um segmento de DNA responsável pela produção de um produto difusível (Lewin, 1994). Como existem diversos tipos de RNA além do mensageiro, que estão associados a funções distintas, como por exemplo a regulação gênica, o segundo conceito de gene é mais realista.

Por se tratar de uma sequência de DNA, um gene pode ocorrer sob mais de uma alternativa ou *alelo*. Basta uma alteração na sequência de bases que cause uma mudança no produto para que se configure uma alternativa (alelo) diferente. Para simplificar o entendimento, normalmente utiliza-se o modelo básico de um gene com dois alelos para os indivíduos diplóides. Esses, portanto, carregam dois alelos para o mesmo gene, um em cada cro-

mosso como homólogo. Mas, na realidade, um gene pode ter muitas alternativas. Evidentemente, num indivíduo diplóide só ocorre uma ou duas formas no máximo. Mas diferentes indivíduos podem apresentar formas alélicas diferentes uns dos outros. Um exemplo bem conhecido desde 1925 é o tipo sanguíneo na espécie humana, sendo que numa população podem ser encontrados três diferentes alelos (A, B e O) e seis distintos genótipos (AA, AB, AO, BB, BO e OO).

3. GENÓTIPO E FENÓTIPO

Onde termina o conceito de gene e começa o que se denomina de característica? Os organismos vivos têm a habilidade de mobilizar os componentes ao seu redor e converter esses componentes em seus materiais vivos. Assim, uma semente utiliza recursos do ambiente para desenvolver uma planta. Na verdade, a informação genética está presente no gene, contudo ela necessita ser decodificada e expressada. Quando se observa um caráter, observa-se o fenótipo, pois esse é resultante do somatório dos efeitos genotípicos (constituição genética), de ambiente (tudo que está ao redor que não o genótipo) e da interação entre ambos (Suzuki et al., 1989) e, muitas vezes, de efeitos pleiotrópicos.

Quando um indivíduo heterozigoto não produz um fenótipo intermediário entre os dois homozigotos é porque a expressão gênica está sofrendo desvios de dominância, epistasia, pleiotropia, ou do ambiente. São basicamente dois os tipos de interações gênicas causadoras de desvios: a interação entre os alelos do mesmo gene (dominância) e as interações entre alelos de diferentes genes (epistasia). No primeiro caso, a inexistência de interferência de um alelo sobre outro caracteriza o que se chama de co-dominância e nesse caso o fenótipo do heterozigoto é intermediário em relação aos homozigotos. Caso contrário, dependendo da magnitude dos desvios, pode ocorrer a dominância incompleta, a dominância completa e a sobredominância (quando o heterozigoto é superior a qualquer homozigoto). Devido à dominância ($A > O$ e $B > O$) os genótipos AA e AO apresentam os mesmos fenótipos.

A rigor, todos os genes se enquadram numa das três categorias: dominantes, co-dominantes e recessivos. A definição dada ou inferida para formas intermediárias de dominância normalmente requer conhecimento sobre a exata função do gene (Miller, 1997). E isto é muito raro, se considerarmos que uma planta pode ter mais de 20 mil genes.

Epistasia é o efeito de um gene mutante (epistático) que mascara o efeito de outro gene mutante (hipostático) (Miller, 1997). Numa rota metabólica quase todos os genes são epistáticos porque diferentes alelos de um gene têm efeitos diferentes podendo alterar ou suprimir produtos de outros genes que afetam pontos da mesma rota.

O ambiente também tem influência variável na expressão de diferentes genes. Em alguns casos, o ambiente pouco ou nada afeta a expressão de um gene, como é o caso da cor da flor da maioria das plantas. Nesses casos, um gene ou poucos genes estão interferindo nesse fenótipo. Contudo, existem muitas características cujo fenótipo depende da expressão de muitos genes e como consequência da interação entre eles e com o ambiente. Esta é uma situação onde o ambiente exerce uma grande influência. Como exemplo podemos citar rendimento de grãos e produção de biomassa.

A pleiotropia, definida como o efeito de um gene em mais de uma característica se constitui em um empecilho ao estudo da expressão gênica. Esse efeito é mais facilmente reconhecido em certas situações. Por exemplo, uma maior quantidade de lignina na planta favorece a rachadura do lenho, em condições de seca prolongada. Ou seja, os genes responsáveis pela produção de lignina acabam afetando a rachadura do lenho.

4. DIVERSIDADE GENÉTICA

Para que seja possível o melhoramento, há a necessidade da existência de variabilidade genética, ou seja, de diferentes genes e alelos. Isto permite ao melhorista a seleção de plantas com características específicas desejadas e o descarte de outras, as indesejáveis. A diversidade é uma propriedade de grupos definidos taxonomicamente, enquanto biodiversidade é uma propriedade de toda a biosfera (Pielou, 1995). Portanto, antes do início do melhoramento em si, é imprescindível a caracterização da diversidade genética das populações de plantas, relativamente à característica alvo. Nesse sentido, a diversidade em plantas pode ser pensada em termos de variação interna de cada espécie. Nei (1973) associou o conceito de diversidade genética à variação genética existente em uma dada espécie, propondo a heterozigosidade esperada como medida para quantificar a diversidade. Esse conceito possibilita a associação dos mecanismos microevolutivos à idéia de variação dentro das espécies e, portanto, relaciona a quantificação da diversidade ao processo evolutivo.

5. MARCADORES GENÉTICOS

A análise da diversidade pode ser feita com o uso de marcadores genéticos. Marcador genético é uma característica que é capaz de detectar diferenças entre dois ou mais indivíduos ou organismos. Do ponto de vista molecular, um marcador genético (ou *loco* marcador) serve para identificar um local ou uma região de um cromossomo.

Os marcadores morfológicos são aqueles relacionados à forma ou a um padrão fenotípico de uma dada característica. Em geral são utilizados como

descritores para diferenciar cultivares¹ ou raças² de uma mesma espécie. Contudo, o número de descritores morfológicos é reduzido e em muitos deles ocorre dominância ou epistasia. Com isto, nem sempre se consegue distinguir o heterozigoto Aa do homozigoto AA. Tais limitações ficaram minimizadas com o advento dos marcadores moleculares. Basicamente, os marcadores moleculares podem ser agrupados em duas classes quanto à herança: os de herança simples ou de fácil resolução, como as isoenzimas, os polimorfismos de comprimento de fragmentos ou RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*) e microssatélites (ver Avice, 1994; Ferreira e Grattapaglia, 1995) e os de herança complexa como os RAPD (*Randomly Amplified Polymorphic DNA*) (dominantes), minissatélites e os polimorfismos de comprimento amplificados ou AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*).

Os minissatélites podem detectar uma quantidade de alelos superior aos demais marcadores, mas sua herança é bastante complexa. Além disso a identificação de heterozigotos é bem mais simples com o uso de isoenzimas ou RFLP. Embora os RAPD apresentem vantagens sobre os demais marcadores moleculares, considerando-se custos, uso rotineiro, simplicidade e número de amostras analisadas, esses marcadores não têm reprodutibilidade diante de pequenas modificações de protocolo ou de condições de reação. Entretanto, sua frequência de uso vem crescendo e seu emprego concomitante com outros marcadores possibilita um acesso quase que ilimitado ao genoma (Hillis e Moritz, 1990).

A caracterização genética com marcadores possibilita a estimativa de vários índices genéticos e o conhecimento da organização da distribuição da variabilidade genética entre e dentro de populações. Em termos de melhoramento genético, a variabilidade está contida no *gene pool*, definido aqui como um conjunto de genótipos caracterizados pela similaridade na frequência e associação alélica, sendo que tais genótipos usualmente exibem um padrão geográfico de distribuição (Gepts e Bliss, 1985).

O conhecimento da diversidade genética de uma espécie facilita a escolha de progenitores para os cruzamentos, os estudos de herança, a definição de estratégias adequadas de seleção, o mapeamento genético e a seleção assistida por marcadores. Todas as ações relacionadas com a conservação ge-

¹ A lei 9456 de 25/4/97 define cultivar como “variedade de qualquer gênero ou espécie vegetal superior que seja claramente distinguível de outras cultivares conhecidas por margem mínima de descritores, por sua denominação própria, que seja homogênea e estável quanto aos descritores através de gerações sucessivas e seja de espécie passível de uso pelo complexo agroflorestal, descrita em publicação especializada disponível e acessível ao público, bem como a linhagem componente de híbridos”. Cultivares são variedades melhoradas cultivadas. Ex: Carioca, é uma cultivar de feijão com cor e sabor característico.

² Raça é a população que apresenta uma ou mais características peculiares que a distingue de outras populações da mesma espécie. Por não apresentar isolamento reprodutivo, as raças não são consideradas categorias taxonômicas. Ex: Pororo, milho tipo pipoca que é bem diferente das demais cultivares de milho.

nética também dependem do conhecimento da diversidade genética e a forma como está organizada.

6. CONSERVAÇÃO GENÉTICA

Uma das definições mais bem aceitas para conservação genética é o manejo da biosfera (formas vivas) para uso do homem no sentido de proporcionar o maior benefício sustentável para a presente geração e, ao mesmo tempo, mantendo o seu potencial para atender as necessidades e aspirações das gerações futuras (IUCN-UNEP-WWF, 1980). A conservação genética se constitui então num conjunto de ações coordenadamente executadas que culminam com a manutenção de um conjunto de indivíduos que representam a variabilidade genética de uma espécie. A rigor, a conservação genética se constitui numa atividade complexa, pois envolve a coleta, caracterização, preservação, restauração, distribuição e também melhoramento de germoplasma. Além de complexa, tem um custo elevado.

Existem basicamente duas formas de conservação: *in situ* e *ex situ*. A conservação *in situ* é aquela onde as formas e tipos são conservados no *habitat* natural da espécie. Nesse caso, podem surgir novos variantes genéticos como também o desaparecimento de formas e tipos existentes por competição ou por acidentes naturais como fogo, tempestades, secas, inundações, vulcões e terremotos. Em outras palavras, nas áreas de preservação, as espécies sob conservação *in situ* estão sob os efeitos da evolução. No Brasil existe um grande número de áreas destinadas a conservação dos recursos genéticos como as estações ecológicas, reservas legais, florestas nacionais, parques nacionais e outras unidades de conservação. Contudo, pouco tem sido feito em termos de caracterização genética de espécies nativas. Além disso, as ações implementadas são tímidas e pouco eficientes para impedir a erosão genética a longo prazo em várias dessas áreas.

A conservação *ex situ* é aquela feita fora do *habitat* natural ou de origem do material genético. Geralmente, por conservação *ex situ* atribui-se a conservação em bancos de germoplasma. Nesses, as condições ambientais (temperatura, umidade e luminosidade) são controladas, para que a longevidade das sementes seja a maior possível. No caso de multiplicação vegetativa, os explantes são mantidos em meio de cultura ou câmaras especiais. Um dos primeiros bancos de germoplasma foi estabelecido em São Petersburgo (ex-Leningrado). Atualmente, o maior deles está situado em Fort Collins, nos EUA (criado em 1958), no qual estão sendo preservados mais de 400 mil acessos de aproximadamente 8700 espécies de plantas. No Brasil, existe um banco de germoplasma central, no CENARGEN (criado em 1974), em Brasília, além de bancos ativos de germoplasma (BAG) em diversas unidades de pesquisa em todos os estados da Federação. Mais recentemente surgiram os bancos de sementes comu-

nitários, que foram organizados pelos próprios agricultores, servindo de repositório das sementes crioulas das espécies que eles cultivam.

Na maioria desses bancos de germoplasma são preservadas as mais variadas formas e tipos cultivados e ancestrais das espécies cultivadas de importância econômica. Na verdade, está se preservando uma amostra extraordinariamente pequena comparativamente ao número de espécies existentes na natureza. Por isto, a conservação de áreas com ocorrência de vegetação nativa é de crucial importância para a preservação da diversidade genética. Será nessas áreas que os melhoristas poderão coletar germoplasma para o melhoramento da maioria das espécies ainda não cultivadas, como é o caso da grande parte das espécies medicinais nativas do Brasil ou de espécies cujo valor farmacológico ainda não foi identificado.

7. IDENTIFICAÇÃO VARIETAL

Comumente, os marcadores morfológicos são utilizados para discriminar espécies. Contudo, quando a morfologia é altamente semelhante, corre-se o risco de equívocos na classificação. Assim, a identificação da espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reissek. Celastraceae) via marcadores morfológicos não é tão simples, uma vez que existem várias espécies do mesmo gênero *Maytenus* com morfologia semelhante. Além disso, a discriminação entre a espinheira-santa e as espécies conhecidas como mata-olho (*Sorocea bonplandii* (Baill.) W. C. Burger, Lanj. et Wess. Boer - Moraceae) e falsa-espinheira-santa (*Zollernia ilicifolia* (Brongn.) Vogel - Caesalpiniaceae) praticamente só pode ser feita *in vivo* desde que se tenha conhecimentos de botânica. Essa última possui estípulas, enquanto que a espinheira-santa não. Quando se destaca uma folha ou quebra-se um ramo de *Sorocea bonplandii* ocorre a liberação da seiva na forma de um látex; o mesmo não ocorre com *Maytenus ilicifolia*. Entretanto, se os tecidos foliares estiverem secos, as dificuldades de distinção entre essas espécies aumentam drasticamente, sendo impossível na maioria dos casos. Isto facilita a comercialização de várias espécies como sendo uma única. Quando isto ocorre, existem implicações tanto para o consumidor como para a indústria. No caso do consumidor, ele está sendo enganado. No caso da indústria farmacêutica, a qualidade do produto estará certamente comprometida.

Nos casos, em que a análise morfológica impossibilita a identificação das espécies, pode-se utilizar marcadores moleculares com o objetivo de identificar espécies ou variedades. Esse processo de obtenção de um padrão de bandas exclusivo para uma espécie ou variedade é denominado de *fingerprinting*. O *fingerprinting* equivale a impressão digital, que é específica para cada indivíduo. *Fingerprints* de *Panax ginseng* C. A. Mey. e *Panax quinquefolium* L. com base em RAPD são consistentes, independentemente do tecido e ida-

de da planta. Os padrões eletroforéticos dessas espécies diferem entre si e também de outras espécies comercializadas como tal e consideradas como adulterações ou falsificações (Shaw e But, 1995).

8. MELHORAMENTO GENÉTICO

O melhoramento é a ciência e a arte da manipulação genética. É mais do que a aplicação da genética. O melhorista ainda necessita ter conhecimentos de genética quantitativa, biometria, genética molecular, evolução e da biologia da espécie com a qual trabalha. A primeira fase é a definição do problema e dos objetivos. Num segundo momento, o melhorista necessita coletar e manipular o germoplasma disponível para obter os recombinantes. Finalmente, a terceira etapa é a fase de teste do material obtido.

Os métodos de melhoramento são basicamente dependentes da natureza da reprodução sexual. Algumas espécies são obrigatoriamente de fecundação cruzada ou alógama, como as dióicas, ex: *Baccharis trimera* (Less.) DC. (carqueja), *Cannabis sativa* L. (maconha) e *Laurus nobilis* L. (louro); preferencialmente alógamas como *Zea mays* L. (milho), *Bromelia antiacantha* Bertol. (caraguatá), *Cuphea carthagenensis* (Jacq.) J. F. Macbr. (sete-sangrias), *Lippia alba* (Mill.) N.E.Br. (falsa-melissa), *Taxus brevifolia* Nutt. (teixo), *Tillandsia usneoides* (L.) L. (barba-de-velho), *Wilbrandia ebracteata* Cogn. (taiuiá); preferencialmente autógamas ou de auto-fecundação como *Triticum aestivum* L. (trigo), *Glycine max* (L.) Merr. (soja) e *Ocimum basilicum* L. (manjerição), existindo ainda algumas espécies com grau variável de polinização cruzada, dependendo das condições ambientais, como *Phaseolus vulgaris* L. (feijão) e *Gossypium hirsutum* L. (algodão).

As estratégias de melhoramento dependem fortemente do tipo de reprodução sexual apresentado pelas plantas. A razão deve-se ao fato de que uma população preferencialmente autógama apresenta uma grande quantidade de genes em heterozigose, os indivíduos são heterogêneos e geralmente apresentam vigor híbrido. Já as autógamas são virtualmente homozigotas e as progênes de uma planta são como clones: geneticamente idênticas. Plantas geneticamente idênticas que são de autofecundação formam uma linha pura. Quando surge uma mutação, todos os descendentes dessa planta mutante carregam essa mutação, constituindo-se numa nova linha pura. Pode-se dizer então que uma população autógama é constituída de muitas linhas puras (Allard, 1960; Fehr, 1987).

Dessa forma, no primeiro caso, a variabilidade genética dentro de uma população ocorre entre plantas enquanto no segundo caso, a variabilidade aparece entre linhas puras. No caso de plantas alógamas, o objetivo do melhorista é alterar a frequência dos alelos favoráveis através da seleção de tipos considerados superiores. No caso de plantas autógamas, o melhorista tenta substituir

alelos numa linha por alelos presentes em outras linhas. Para tanto, necessita fazer cruzamentos e obter novos recombinantes ou novas associações alélicas.

8.1. Melhoramento de plantas preferencialmente autógamas - ex.: trigo e soja

As diferentes linhas puras de um banco de germoplasma são geneticamente diferentes e essas diferenças podem ser de um, dois ou muitos genes. Assim sendo, tais linhas exibem um grau variável de similaridade, dependendo das diferenças genéticas acumuladas ao longo da evolução.

Geralmente uma linha pura não apresenta todas as características desejadas. Essa linha pode ter uma arquitetura desejável, ser resistente a insetos, mas o teor de algum metabólito secundário é baixo. Se no germoplasma disponível ao melhorista existirem linhas (ou linhagens) puras com altos teores desse metabólito, os alelos responsáveis pela característica podem ser transferidos através de vários retrocruzamentos. Contudo, se o melhorista necessita combinar duas ou mais características de uma linha pura com duas ou mais características existentes em outra linha pura, há a necessidade da utilização de outro método de seleção. Nesse caso, após o cruzamento entre as duas linhas puras, obtém-se o F_1 que é autofecundado. Esse procedimento produz uma grande quantidade de sementes F_2 que originam plantas F_2 . O número de diferentes genótipos (ou combinações genéticas diferentes) é igual a 3^n , sendo n o número de locos em heterozigose na F_1 . Se a população F_2 é suficientemente grande para proporcionar o aparecimento de todas as combinações genéticas, o melhorista poderá escolher aquela desejável. Como nessa geração ainda existe aproximadamente 50% de homozigose para cada gene, uma planta selecionada segregará diferentes progênies F_3 . O processo de seleção individual de plantas se repete até que o grau de homozigose seja bastante elevado (F_6 ou F_7) (Allard, 1960; Fehr, 1987). Posteriormente, essas linhas *quasi* puras são testadas para diversas características consideradas importantes.

Durante a seleção, o melhorista leva em consideração não só a característica que está sendo melhorada, como o aumento do teor de um metabólito, mas também a quantidade de biomassa, a resistência a doenças e insetos, etc. Na verdade, quando se aplica um método de seleção, existe a possibilidade de obtenção de uma planta com uma associação alélica bem diferente daquelas já existentes na natureza. Ou seja, é possível, via cruzamentos e seleção, associar diferentes alelos que não estavam lado a lado.

8.2. Melhoramento de plantas preferencialmente alógamas - ex.: milho

Para plantas que apresentam fecundação cruzada existem dois métodos básicos de seleção: massal e recorrente. A seleção massal consiste na seleção individual de plantas com o controle apenas da mãe. Esse método não é muito eficiente, pois na progênie de uma planta selecionada aparecerão tipos he-

terogêneos dependendo da origem do pólen. Os ganhos genéticos são pequenos, pois a seleção é feita com base no fenótipo de um dos dois progenitores (Allard, 1960; Fehr, 1987). No entanto, o método é bastante simples e rápido, pois cada ciclo de seleção é feito num ano. Quando se colhe as sementes de uma planta alógama, sabe-se quem é a mãe, mas dificilmente se sabe quem é o pai, pois não se conhece a origem do pólen. As sementes são, então, pelo menos meio irmãs.

O método de seleção recorrente é mais eficiente, pois permite o controle dos dois progenitores, mas é mais demorado. Existem vários tipos de seleção recorrente. O mais simples deles consiste em duas etapas. Na primeira (1º ano), as plantas são selecionadas e na segunda etapa (2º ano), é feito o teste de progênie com uma parte das sementes de cada uma das plantas selecionadas. Aqueles plantas que produzem as melhores progênies continuarão sendo selecionadas, as outras serão descartadas. Assim, a outra parte remanescente das sementes das plantas que deram as melhores progênies, serão plantadas para iniciar o segundo ciclo de seleção. Neste 3º ano, após o intercruzamento entre as progênies das melhores plantas selecionadas no ciclo anterior, haverá uma nova seleção ou re-seleção (Allard, 1960; Fehr, 1987). Na continuidade, é feito um novo teste de progênie. E assim por diante, até que exista variabilidade genética e o nível de endogamia não cause efeitos deletérios nas plantas.

8.3. Plantas transgênicas

Além do melhoramento em si, feito no sentido de aumentar o teor de um produto específico naturalmente já codificado em uma espécie vegetal, as plantas podem ser utilizadas para produzir outras substâncias de interesse na saúde humana, se os genes adequados forem transferidos a elas. Os avanços obtidos com a biologia molecular permitem o isolamento de um gene numa espécie e sua transferência para uma planta. Assim, um gene de uma bactéria, vírus ou mesmo humano pode ser incorporado ao genoma de uma planta e essa expressar esse gene e produzir corretamente o produto gênico codificado. Dessa forma, vacinas e outros produtos farmacêuticos poderiam ser produzidos por plantas.

Plantas transgênicas (ou organismos geneticamente modificados - OGM) são plantas que têm inserido em seu genoma uma sequência de DNA manipulado em laboratório por técnicas moleculares ou biotecnológicas. O DNA inserido pode ser da mesma ou de outra espécie. Tais técnicas, desenvolvidas a partir dos anos 70, possibilitam o corte e a ligação de fragmentos de DNA de uma forma altamente precisa. Particularmente, sequências de DNA (genes) podem ser removidas de um organismo, ligadas a sequências regulatórias e inseridas em outros organismos. A fonte desses genes pode ser qualquer organismo vivo (microorganismo, inseto, planta, animal) e o organismo recipiente, nesse caso específico, plantas cultivadas.

Do ponto de vista legal, no Brasil, OGM é o organismo cujo material genético (DNA/RNA) tenha sido modificado por qualquer técnica de engenharia genética. A Lei 8.974, de 5/01/95, definiu ainda engenharia genética como a atividade de manipulação de moléculas DNA/RNA recombinantes. No presente trabalho, OGM é utilizado como sinônimo de transgênico.

O processo de obtenção de plantas transgênicas é tecnicamente bem conhecido. O principal obstáculo na inserção de um gene no genoma de uma planta por via não sexual é a parede celular. Para ultrapassar essa barreira existem vários métodos, o natural (ou indireto), como é o caso de *Agrobacterium tumefaciens* e os métodos desenvolvidos pelo homem (diretos), tais como eletroporação, balísticos, químicos e microinjeção (Potrykus, 1991). Preferencialmente, *A. tumefaciens* é utilizada para mediar a transformação, pois essa é capaz de transferir um segmento de DNA para uma célula vegetal, o qual será inserido no genoma do hospedeiro. Para aquelas espécies que não são susceptíveis a essa bactéria (como é o caso da maioria das monocotiledôneas), são utilizados os demais métodos diretos. A identificação e a clonagem de um gene de importância a ser inserido numa planta constitui ainda a etapa mais trabalhosa e de custo elevado.

Estima-se que mais de cem mil metabólitos secundários são produzidos pelas plantas, geralmente em baixas quantidades. A manipulação de genes de enzimas que catalisam os principais passos da rota de produção ou de fatores de transcrição pode aumentar a produção desses metabólitos e tornar exequível o cultivo de plantas transgênicas com tal finalidade. Como consequência, o aumento do valor de certas espécies agrícolas pode ser alcançado através de modificações genéticas, que alteram a quantidade ou a composição de certos metabólitos, os quais são de grande importância para a saúde humana. As plantas poderão se tornar fábricas de substâncias, já que, na maioria dos países, a produção de uma substância em cultura de células ou em determinados microorganismos tem inúmeras restrições técnicas e legais. Exemplo disto são os testes em andamento para a produção de produtos como o hormônio do crescimento humano em milho, vacinas, anticoagulantes, entre outros.

A produção de vacinas comestíveis em plantas é um sistema bastante atraente, pois em alguns casos apresenta inúmeras vantagens sobre o sistema convencional: armazenamento em condições menos sofisticadas, simplicidade de aplicação, custos reduzidos, fácil produção e riscos reduzidos de transmissão de outras doenças com equipamentos e materiais contaminados. Contudo, uma questão ainda pendente é a segurança e a eficiência dessas vacinas produzidas por plantas.

Vários laboratórios em muitos países estão desenvolvendo esse tipo de vacinas utilizando estratégias diferentes. Um modelo sob investigação é a glicoproteína B (gB) do citomegalovírus humano (CMV), em plantas de arroz.

Um gene manipulado *in vitro* permite que essa proteína seja produzida e armazenada no grão. Testes preliminares indicaram que as plantas sintetizam as proteínas gB de maneira similar às células humanas infectadas pelo vírus CMV. No caso da imunização oral, a resposta é induzida no tecido linfócito da garganta e esôfago, resultando na produção de anticorpos não somente no local, mas em todo o corpo (Ganz et al., 1996).

Nos últimos anos, a produção do antígeno de superfície do vírus da hepatite B (HBsAg) foi obtida em plantas e vacinas orais estão sendo utilizadas em testes clínicos com humanos desde 1997 contra *Escherichia coli* enterotoxigênica. Vacinas orais são apropriadas para proteção contra patógenos que infectam as superfícies mucosas, particularmente contra bactérias e vírus causadores de diarreias (Mason et al., 1992).

Plantas transgênicas de fumo estão sendo desenvolvidas para a produção de vacinas para o controle da hepatite B, cárie dental, malária e o vírus da Influenza. Plantas transgênicas de batatinha estão sendo desenvolvidas visando o controle da cólera, diabetes autoimune e diarreia e plantas transgênicas de feijão estão em estudos para o controle do HIV e da febre aftosa. Plantas transgênicas de fumo também estão sendo utilizadas como modelo para produzir imunoglobulinas e anticoagulantes. Finalmente, hormônios e proteínas recombinantes também estão sendo produzidos em diferentes plantas geneticamente transformadas, tais como fumo, batata, arroz, agrião, milho e canola (Giddings et al., 2000).

Embora o uso de biofármacos (fármacos produzidos biologicamente) seja um fenômeno recente, diversas proteínas terapêuticas têm recebido ampla aceitação e estão sendo rotineiramente utilizadas. Exemplos incluem eritropoietina, calcitonina e antitripsina a-1. Outro exemplo de biofármaco produzido em planta transgênica é a hirudina (Parmenter et al., 1996), um poderoso anticoagulante sanguíneo produzido pela sanguessuga *Hirudo medicinalis*, e que agora pode ser extraído de sementes.

Além de biofármacos, muitas variedades estão sendo transformadas visando a melhoria da qualidade nutricional. São os chamados nutraceuticos. Um exemplo é o trigo com maior teor de gluteninas de alto peso molecular, maior produção de proteínas ricas em metionina e cisteína e aumento de lisina na semente. As estratégias para essa finalidade são: expressão de genes endógenos que codificam para proteínas com as características em taxas altas; expressão de genes exógenos que codificam para proteínas com a quantidade desejada de aminoácidos; modificação de genes endógenos para que a proteína contenha maior quantidade de determinado aminoácido; alteração da biossíntese de aminoácidos e expressão de oligonucleotídeos sintéticos que codificam para peptídios com os aminoácidos desejados (Kleter et al., 2000). Outros trabalhos enfocam a alteração de açúcares, amido ou aumento de micronutrientes. Um tipo de arroz, denominado de arroz-dourado, foi desenvol-

vido com a possibilidade de produzir beta-caroteno que se converte em vitamina A. Contudo, esse componente é produzido em baixa quantidade.

Em muitos casos, um gene isolado de uma espécie não se expressa adequadamente em outra, em geral devido à diferença na preferência de uso de codons³ pelas diferentes espécies. Nesses casos, processa-se a substituição de codons degenerativos, sem alteração do produto final. Tem-se então, os genes semi-sintéticos. Um exemplo de gene semi-sintético é a modificação feita em alguns codons do gene que foi isolado de uma planta nativa da África (*Thaumatococcus daniellii* (Benn.) Benth.). Esse gene, que codifica a proteína denominada de taumatina, cujo poder edulcorante é cerca de 3.000 vezes superior ao da sacarose, foi modificado e introduzido em leveduras para que essa proteína seja produzida em larga escala. Na planta, a referida proteína só é produzida nas flores e em pequena quantidade.

8.4. Um exemplo: *Taxus brevifolia* Nutt.

A produção da substância antitumoral taxol (Wani et al., 1971), também denominada de paclitaxel, ilustra a complexidade da manipulação genética de uma característica, bem como de uma espécie. Do floema de *Taxus brevifolia* Nutt., 0,01 a 0,03% do peso seco é taxol. Em geral, de 30 kg de casca são extraídos 2 g de taxol, o necessário para o tratamento de um paciente. Essa espécie é arbórea e de crescimento lento. As outras espécies do gênero *Taxus*, nativas da costa oeste dos Estados Unidos, também produzem taxol, em menor quantidade, ou substâncias similares (como os taxanos). O processo de síntese do taxol já foi realizado, mas o mesmo não é ainda economicamente viável.

Num estudo sobre diversidade genética baseado em características relacionadas à produção do paclitaxel, em diferentes tecidos e locos alozímicos, a maior parte da variação genética está dentro de populações. Isto significa que há bastante similaridade genética entre árvores, mesmo estando distantes umas das outras (Wheeler et al., 1995). Os autores ainda encontraram valores baixos a médios para a herdabilidade de características ligadas aos taxanos. Esses resultados mostram que é possível iniciar um programa de melhoramento genético para que as plantas produzam essas substâncias em maior quantidade. No entanto, tendo em vista seu longo ciclo, por tratar-se de uma gimnosperma arbórea, e que são muitos os fatores envolvidos na produção do paclitaxel, o progresso genético esperado é reduzido. Desta forma, o emprego de marcadores moleculares na elaboração de mapas genéticos pode aumentar a eficiência da seleção. Além disso, a identificação de genes maiores, seu isolamento e transferência para outras plantas ou mesmo para cultura *in vitro*, é uma oportunidade para acelerar a produção desse metabólito ou de outros similares.

³ Codon é o nome dado a uma trinca de bases nitrogenadas que codificam para um aminoácido ou para um sinal de terminação. Portanto, os codons fazem parte da sequência codificadora de um gene que codifica para uma proteína. Pode-se dizer que os codons fazem parte do código genético.

A continuação da exploração predatória e a ausência de um programa de melhoramento genético são indicadores decisivos de que essa espécie, em pouco tempo, estará extinta.

9. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A identificação de metabólitos vegetais de interesse terapêutico continua sendo uma área de grande importância para a saúde humana. O melhoramento de plantas pode contribuir para o aumento significativo da produção de uma substância que normalmente é produzida em baixas quantidades. O conhecimento da herança dos genes envolvidos em sua expressão é fundamental para o sucesso do melhoramento.

Os marcadores moleculares são ferramentas importantes para caracterizar e monitorar a diversidade genética, bem como identificar espécies e associar espécies com os produtos farmacológicos. Com a caracterização da diversidade genética, é possível desenvolver estratégias mais eficientes de conservação de formações vegetais no sentido de usar os recursos genéticos de forma sustentada.

As ferramentas desenvolvidas pela biologia e genética moleculares permitem caracterizar a modificação de substâncias para gerar produtos com propriedades terapêuticas. A possibilidade de ultrapassar a barreira imposta pelo isolamento reprodutivo de uma espécie, está permitindo que produtos farmacêuticos de origem sintética, animal, humana ou de microorganismos sejam produzidos em plantas, especialmente os biofármacos e os produtos com alta qualidade nutricional. Dessa forma, a genética e o melhoramento de plantas podem contribuir de forma substancial na produção de alimentos mais nutritivos e fármacos.

10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALLARD, R.W. *Princípios do melhoramento genético de plantas*. São Paulo: Blucher-USAID, 1960. 381 p.
- AVISE, J.C. *Molecular markers, natural history and evolution*. New York: Chapman & Hill, 1994. 511 p.
- FERREIRA, M.E.; GRATTAPAGLIA, D. *Introdução ao uso de marcadores RAPD e RFLP em análise genética*. Brasília: EMBRAPA, 1995. 220p.
- FEHR, W.R. *Principles of cultivar development*, v. 1. New York: Macmillan, 1987. 536p.
- GANZ, P.R.; DUDANI, A.K.; TACKABERRY, E.S.; SARDANA, R.; SAUDER, C.; CHENG, X.; ALTOSAAR, I. Expression of human blood proteins in transgenic plants: the cytokine GM-CSF as a model protein. In: OWEN, M.R.L.; PEN, J. (ed.). *Transgenic plants: a production system for industrial and pharmaceutical proteins*. New York: John Wiley, 1996. p.281-297.
- GEPTS, P.; BLISS, F.A. F₁ hybrid weakness in the common bean. *J. Heredity*, v. 76, p.447-450, 1985.

- GIDDINGS, G., ALISON, G., BROOKS, D., CARTER, A. Transgenic plants as factories for biopharmaceuticals. *Nature Biotechnology*, v.18, p.1151-1155, 2000.
- HILLIS, D.M.; MORITZ, C. *Molecular systematics*. Sunderland: Sinauer, 1990. 588 p.
- IUCN-UNEP-WWF. *World conservation strategy*. Gland: IUCN, 1980.
- KLETER, G.A., NOORDAM, M.Y., KOK, E.J., KUIPER, H.A. New developments in crop plants biotechnology and their possible implications for food product safety. [on line] URL: <http://www.rikilt.wag-ur.nl/Publications/Publications/Tekstrapport2000%20004.htm>. 2000.
- LEWIN, B. *Genes V*. New York: Oxford University, 1994. 1272p.
- LEWONTIN, R. *It ain't necessarily so – The dream of the human genome and other illusions*. New York: New York Review Books, 2000. 330p.
- MASON H.S.; LAM D.M.K.; ARNTZEN C.J Expression of hepatitis B surface antigen in transgenic plants. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, v. 89, p. 11745-11749, 1992.
- MILLER, W.J. Dominance, codominance and epistasis. *Braz. J. Gen.*, v. 20, n. 4, p.663-665, 1997.
- NEI, M. Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, v. 70, n. 12, p.3321-3323, 1973.
- PARMETER D.L.; BOOTHE J.G.; MOLONEY M.M. Production and purification of recombinant hirudin from plant seeds. In: OWEN, M.R.L.; PEN, J. (ed.). *Transgenic plants: a production system for industrial and pharmaceutical proteins*. New York: John Wiley, 1996. p. 261-280.
- PEILOU, E.C. Biodiversity versus old-style diversity measuring biodiversity for conservation. In: BOYLE, T.J.B.; BOONTAWEE, B. (ed.). *Measuring and monitoring biodiversity in tropical and temperate forests*. Bogor: CIFOR, 1995. p.4-16.
- POTRYKUS, I. Gene transfer to plants: assessment of published approaches and results. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, v. 42, p. 205-225, 1991.
- SHAW, P.C.; BUT, P.P.H. Authentication of *Panax* species and their adulterants by random-primed polymerase chain reaction. *Planta Medica*, v. 61, p. 466-469, 1995.
- SUZUKI, D.T.; GRIFFITHS, A.J.F.; MILLER, J.H.; LEWONTIN, R.C. *An introduction to genetic analysis*. New York: W.H. Freeman, 1989. 768p.
- WALLACE, B. *The search for the gene*. Ithaca: Cornell University, 1992. 224p.
- WANI, M.C.; TAYLOR, H.L.; WALL, M.E.; COGGON, P.; MCPHAIL, A.T. Plant antitumor agents. VI. The isolation and structure of taxol, a novel antileukemic and antitumor agent from *Taxus brevifolia*. *J. Am. Chem. Soc.*, v. 93, p.2325-2327, 1971.
- WHEELER, N.C.; JECH, K.S.; MASTERS, S.A.; O'BRIEN, C.J.; TIMMONS, D.W.; STONECYPHER, R.W.; LUPKES, A. Genetic variation and parameter estimates in *Taxus brevifolia* (Pacific yew). *Can. J. For. Res.*, v. 25, p.1913-1927, 1995.

11. SUGESTÕES PARA LEITURA

- FEHR, W.R. *Principles of Cultivar Development*. London: Macmillan, 1987. v. 1, 408p.
- FERREIRA, M.E.; GRATTAPAGLIA, D. *Introdução ao uso de marcadores RAPD e RFLP em análise genética*. Brasília: EMBRAPA, 1995. 220p.

DIVERSIDADE E DOMESTICAÇÃO DE PLANTAS MEDICINAIS

AUTORES

Maurício Sedrez dos Reis
Alexandre Mariot
Walter Steenbook

SUMÁRIO DO CAPÍTULO

1. Introdução
2. Diversidade e possibilidades de utilização
3. Obtenção de matéria-prima e domesticação
4. Cultivo
5. Manejo de populações naturais de espécies de uso medicinal
6. Considerações finais
7. Referências bibliográficas
8. Sugestões para leitura

1. INTRODUÇÃO

A biodiversidade das florestas tropicais constitui-se na principal fonte de biomoléculas para a produção industrial de medicamentos, cujas vendas chegam, em nível mundial, a 30 bilhões de dólares anuais, mercado este em ampla expansão (Sears, 1995).

Várias empresas nacionais vêm empregando matéria-prima vegetal diretamente na elaboração de seus medicamentos. Os fitoterápicos têm sido, no caso do Brasil e de muitos países, o suporte da indústria farmacêutica genuinamente nacional de pequeno e médio porte (Farias et al., 1994).

No Brasil, o crescimento do mercado de medicamentos fitoterápicos é da ordem de 15% ao ano, enquanto o crescimento anual do mercado de medicamentos sintéticos gira em torno de 3 a 4% (ABIFITO, 2001).

Contudo, em nível nacional, apenas 20% da população é responsável por 63% do consumo dos medicamentos sintéticos disponíveis, sendo que o restante encontra nos produtos de origem natural, especialmente as plantas medicinais, a principal ou a única fonte de recursos terapêuticos (Di Stasi, 1996). Conforme Carriconde (1999), 60 milhões de pessoas não têm acesso à maior parte dos medicamentos no país, apesar de se gastar cerca de 8 bilhões de dólares em medicamentos por ano. A alternativa da fitoterapia é utilizada tanto dentro de um contexto cultural, na medicina popular, quanto na forma de fitoterápicos.

Considerando que a fitoterapia constitui-se em uma opção terapêuti-

ca eficaz, de baixo custo e culturalmente apropriada, um grande número de prefeituras municipais tem estruturado programas de uso de fitoterápicos (Moresco e Oliveira, 1995; Pires, 1996; Sacramento, 1996) em seus sistemas de saúde. A articulação dessas prefeituras com instituições de pesquisa, com o movimento popular de saúde e com governos estaduais vem promovendo ações em nível estadual e municipal bastante efetivas.

Em vários estados, tais como Santa Catarina e Paraná, estão sendo criadas associações, sociedades ou comitês de plantas medicinais, visando envolver os vários setores da sociedade ligados ao tema, desde comunidades de agricultores e movimentos populares de saúde até pesquisadores, indústrias farmacêuticas e organismos gestores de políticas públicas (Brasil, 2001).

Com o aumento da demanda pela utilização de plantas medicinais na cura ou prevenção de doenças, o cultivo e/ou o extrativismo dessas plantas torna-se uma alternativa cada vez mais importante na agricultura nacional (Corrêa Júnior et al., 1994).

Por outro lado, a qualidade das plantas medicinais e dos produtos fitoterápicos comercializados vem sendo afetada negativamente pelo aumento da demanda dos mesmos. Estudos têm demonstrado que cerca de 50% dos produtos fitoterápicos disponíveis no comércio, no Brasil, apresentam alguma irregularidade devido à presença de matéria orgânica estranha, sujidades e insetos, problemas de identificação botânica, teores de fitocompostos abaixo do especificado e adulteração (Marques et al., 1990; Marques, 1992). Os preços pagos pelo comércio atacadista são extremamente baixos, fato que contribui para o aumento da pressão sobre a biodiversidade e para a manutenção da baixa qualidade da matéria-prima, criando um círculo vicioso (Corrêa Júnior, 1996).

Paralelamente, observa-se uma demanda por novas tecnologias e opções na produção agrícola. As limitações à expansão das fronteiras agrícolas e a necessidade de manutenção ou melhoria do ambiente, associadas a uma expectativa de melhoria da qualidade de vida no meio rural e nas cidades, exigem uma maior eficiência dos processos relacionados à produção vegetal, através do uso de tecnologias pertinentes (Guerra et al., 1998). Como decorrência, os modelos tecnológicos recentes devem procurar utilizar mais o conhecimento do que o capital e, sobretudo, procurar ser mais adaptados aos ambientes naturais em que vivem as populações do campo.

Tecnologias pertinentes, no conceito proposto pela FAO, compreendem ferramentas tecnológicas que contribuem para o desenvolvimento sustentável por serem tecnicamente factíveis no contexto do desenvolvimento técnico-científico de um país, por proporcionarem benefícios aos destinatários, por serem ambientalmente seguras e socioeconômica e culturalmente assimiláveis. Guerra et al. (1998) mencionam que as tecnologias pertinentes referem-se, em particular, àquelas tecnologias que promovem o desenvolvimento de uma agricultura sustentável através do uso de recursos genéticos e de proces-

sos de transformação desses recursos, considerando a cultura e a tecnologia local. Conforme o texto da Convenção da Diversidade Biológica adotado a partir da Conferência das Nações Unidas sobre o Meio Ambiente e Desenvolvimento, ocorrida no Rio de Janeiro de 3 a 14 de junho de 1992, o termo *uso sustentável dos recursos genéticos* é empregado como o uso dos componentes da diversidade biológica, de maneira a evitar o seu declínio, mantendo, assim, o potencial de tornar compatíveis as aspirações e necessidades das gerações presentes e futuras.

A exploração de plantas de uso medicinal da flora nativa através da extração direta nos ecossistemas tropicais (extrativismo) tem levado a reduções drásticas das populações naturais dessas espécies, seja pelo processo predatório de exploração, seja pelo desconhecimento dos mecanismos de perpetuação das mesmas. Assim, a domesticação e cultivo, práticas razoáveis para espécies medicinais exóticas, aparecem como opções para obtenção da matéria-prima de interesse farmacêutico e redução do extrativismo nas formações florestais.

Entretanto, a conservação dos ecossistemas em que ocorrem espécies medicinais nativas envolve necessariamente alternativas de uso que permitam retorno econômico (Godoy e Bawa, 1993; Godoy et al., 1993; Sheldon et al., 1997; Reis et al., 2000). Alternativas que propõem a obtenção de produtos que possam ser repostos pelo próprio ecossistema num ciclo definido, podem possibilitar renda aos proprietários da terra, e, ao mesmo tempo, manter o equilíbrio desejado desses ecossistemas. Tal abordagem permite a obtenção de matéria-prima mesmo daquelas espécies em diferentes graus de domesticação ou mesmo não domesticadas (Reis et. al., 2001).

Grande parte da faixa de influência atlântica no Brasil apresenta um relevo predominantemente declivoso, sendo originalmente coberto pela Floresta Tropical Atlântica (Mata Atlântica, incluindo diversas formações florestais, como a Floresta Ombrófila Densa, Floresta Ombrófila Mista, Floresta Estacional Decidual e Semidecídua, mangues, restingas e campos de altitude associados) em sua maior parte. Atualmente, restam apenas 7,3% da cobertura florestal desse ecossistema, em sua grande maioria na forma de fragmentos com formações florestais secundárias (Fundação SOS Mata Atlântica - INPE, 1998).

Ressalta-se que a maior parte das áreas de cobertura original pela Mata Atlântica apresenta uma vocação tipicamente florestal (relevo ondulado e forte ondulado, solos rasos e ácidos), em que a utilização fica restrita a estratégias que implicam em manutenção permanente da cobertura florestal, sob pena dos efeitos negativos da erosão e completo depauperamento do solo. Nessas situações, a alternativa do manejo de populações naturais (Reis, 1996) é a opção mais razoável, especialmente considerando-se a possibilidade de uso múltiplo (várias espécies) nesse ecossistema.

Além disso, a conservação dos ecossistemas tropicais, como a Mata Atlântica, se justifica em função de aspectos socioeconômicos de amplo es-

pectro, tais como: manutenção e regularização dos mananciais hídricos que abastecem as grandes cidades, conservação da diversidade existente para uso futuro (especialmente na indústria farmacêutica) e exploração imediata ou atual dos recursos florestais múltiplos (mel, madeira, palmito, plantas ornamentais, plantas medicinais, frutíferas, caça controlada, etc.).

Em virtude do modelo de estruturação fundiária adotado historicamente no Brasil, a maioria das propriedades particulares que apresentam solo raso e ácido e de relevo ondulado e forte ondulado se encontra sob a posse de pequenos agricultores, que trabalham em regime de economia familiar. Assim, o manejo de populações naturais apresenta também uma justificativa social, no sentido de gerar renda para famílias de pequenos agricultores e elevar suas condições de vida, evitando, conseqüentemente, o êxodo rural.

Entretanto, o conhecimento da diversidade existente e o estabelecimento de estratégias de utilização de plantas medicinais se constituem em uma área de pesquisa relativamente recente no país. Ao mesmo tempo, o número de pesquisadores dedicados aos estudos com plantas medicinais é muito reduzido, comparado ao número de espécies que necessitam de estudos (Gottlieb e Borin, 1997). Assim, muito ainda há por se fazer em termos de domesticação, tecnologia de produção, manejo de populações naturais, processamento, controle de qualidade, etc.

2. DIVERSIDADE E POSSIBILIDADES DE UTILIZAÇÃO

A maior parte das espécies medicinais cultivadas no Brasil são espécies exóticas, domesticadas em seus ecossistemas naturais e que apresentam características de plantas heliófitas (pioneiras). A maioria é de origem mediterrânea, tendo sido trazidas para cá durante o processo de colonização. Pode-se citar neste grupo o alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.), a melissa (*Melissa officinalis* L.), o funcho (*Foeniculum vulgare* Mill.), a arruda (*Ruta graveolens* L.), a camomila [*Chamomilla recutita* (L.) Rauschert], o dente-de-leão (*Taraxacum officinale* Webber ex F. H. Wigg.), a mil-folhas (*Achillea millefolium* L.), a tanchagem (*Plantago major* L.), a calêndula (*Calendula officinalis* L.) e o tomilho (*Thymus vulgaris* L.), entre muitas outras (Corrêa Júnior et al., 1994; Martins, et al., 1995).

Por outro lado, várias espécies nativas têm sido largamente empregadas pela população, cujo conhecimento acerca do uso medicinal foi desenvolvido inicialmente por comunidades indígenas e caboclas do país. Entre as principais plantas nativas de uso popular podem ser citadas as espécies de *Baccharis* (carqueja), *Bauhinia* (pata-de-vaca), *Cecropia* (embaúba), *Maytenus* (espíneira-santa), *Mikania* (guaco) e *Passiflora* (maracujazeiro).

Diversos autores têm apontado a importância dos estudos químicos e farmacológicos em espécies tropicais pela intensa produção de metabólitos

secundários nas espécies desses ecossistemas (Brito e Brito, 1993; Gottlieb et al., 1996). Tal fato tem se mostrado intimamente associado aos processos evolutivos envolvendo mecanismos de proteção contra predadores (herbívoros ou patógenos) da rica fauna tropical e inclusive mecanismos de atração (visando a polinizadores ou a dispersores de sementes) envolvendo mutualismos nesses ecossistemas (Coley, 1980; Brown, 1987; Gottlieb et al., 1996).

Brito e Brito (1993) apontam diversos estudos químicos e/ou farmacológicos realizados com espécies da flora nativa, ressaltando as potencialidades de utilização de várias delas, bem como a necessidade de maiores estudos na riquíssima flora tropical brasileira. Entre as espécies apontadas por Brito e Brito (1993), aparecem na área de domínio da Mata Atlântica (conforme Reitz et al., 1978 e Klein, 1980): *Mandevilla velutina* K.Schum. (jalapa), *Tabebuia heptaphylla* (Vell.) Toledo (= *Tabebuia avellanedae* Lorentz ex Griseb.) (ipê-roxo), *Cordia verbenacea* DC. (erva-de-baleeira), *Chenopodium ambrosioides* L., *Hedyosmum brasiliense* Mart. (cidrão), *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. (marcela), *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni (estêvia), *Wilbrandia verticillata* (Vell.) Cogn., *Hyptis umbrosa* Salzm. ex Benth. (hortelã-domato), *Peltodon radicans* Pohl, *Strychnos trinervis* (Vell.) Mart. (quina-cruzeiro), *Scoparia dulcis* L., *Astronium urundeuva* (Allemão) Engl. (aroeira), *Petiveria alliacea* L., *Alpinia speciosa* (J.C.Wendl.) K.Schum..

Por outro lado, esforços vêm sendo realizados no sentido de ampliar o conhecimento ecológico e agrônômico para algumas espécies nativas, tais como *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reissek (espinheira-santa) (Perecin, 2001; Pereira, 1998; Rosa, 1998; Scheffer, 2001; Steenbock, 2002), *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. (marcela) (Ikuta, 1998; Marques, 1998; Pardo, 1998), *Plantago major* L. (tanchagem) (Blanco, 1998), *Mikania glomerata* Spreng. (guaco) (Costa et al., 1999), *Vernonia polyanthes* Less. (assa-peixe) (Costa et al., 1999), *Bidens pilosa* L. (picão) (Oliveira et al., 1999), *Baccharis trimera* (Less.) DC. (carqueja) (Borella et al., 2001; De Candole et al., 2000), *Bauhinia forficata* Link (pata-de-vaca) (Beltrati et al., 1989; Ramos et al., 2000; Santos, 1994) e *Piper cernuum* Vell. (pariparoba) (Mariot, 2000).

Em setembro de 2001, por iniciativa do IBAMA e da EMBRAPA / CENARGEM, foi realizada a 1ª Reunião Técnica sobre Recursos Genéticos de Plantas Medicinais e Aromáticas, envolvendo pesquisadores de todo o Brasil e apontando espécies medicinais prioritárias para investigação em conservação e manejo, nos diversos biomas brasileiros (IBAMA/CENARGEM, 2001).

Desse modo, considerando-se o valor das plantas medicinais não apenas como recurso terapêutico, mas também como fonte de recursos econômicos, torna-se importante estabelecer linhas de ação voltadas para o desenvolvimento de técnicas de manejo ou cultivo, tendo em vista a utilização dessas espécies vegetais pelo homem aliada à manutenção do equilíbrio dos ecossistemas tropicais (Reis, 1996; Sheldon et al., 1997).

As florestas tropicais apresentam um equilíbrio dinâmico extremamente delicado, com intrincadas relações entre as espécies da flora e fauna, como demonstram Jansen (1970), Bawa (1974, 1992), Gilbert (1980) e Terborg (1992). Assim, o manejo das espécies desses ecossistemas deve levar em consideração a manutenção da diversidade, sob pena de erodir geneticamente a espécie (ou espécies) sob manejo ou até de levar o ecossistema ao colapso. As florestas tropicais apresentam aspectos evolutivos específicos e, conseqüentemente, necessitam de técnicas de conservação e manejo também específicas.

Dessa forma, um dos aspectos de maior relevância para a sustentabilidade desses ecossistemas, quando manejadas suas espécies, é a manutenção da diversidade biológica existente. Assumir essa prerrogativa significa admitir o uso múltiplo como alternativa para preservar o delicado equilíbrio do ecossistema em questão (Fantini et al., 1992; Reis et al., 1994; Reis et al., 2000).

Além disso, a estrutura e a composição das populações vegetais naturais são oriundas de uma série de eventos edafoclimáticos e ecológicos variáveis no tempo e no espaço. Para manter a estrutura e a composição típicas de cada população, as espécies apresentam características que facilitam a sobrevivência e/ou a reprodução em um grande número de ambientes. Esses ambientes incluem desde variações de clima e solo até os diferentes estratos (espécies adaptadas ao dossel, formação de sub-bosque e estratos herbáceos, de uma maneira geral), típicos de florestas tropicais.

As espécies tropicais podem ser classificadas em grupos ecológicos característicos, em decorrência de seus diferentes padrões sucessionais. A existência de características diferenciais para as espécies que se estabelecem nos diferentes estádios sucessionais nas formações secundárias e nas florestas primárias, é proveniente de processos evolutivos característicos das florestas tropicais. A distribuição de clareiras, no tempo e no espaço, produz uma regeneração diferenciada, pois as espécies apresentam adaptações direcionadas à ocupação e colonização destas clareiras (Denslow, 1980).

A sucessão secundária antropomórfica, descrita por Klein (1980), é um processo que atinge, atualmente, o que ainda resta da Mata Atlântica em quase toda sua extensão, refletindo um processo de ocupação e exploração desordenadas. Contudo, a falta de sementes e de dispersores implica em que muitos locais permaneçam estagnados nas formações iniciais sem que ocorra a sucessão, ou seja, ocorre um clímax regional. Nessas situações, espécies atrativas à fauna (produtoras de frutos carnosos, flores com néctar ou pólen em abundância, etc.) são estratégicas para a retomada da dinâmica destas formações, pois possibilitariam a reintrodução dos vetores de polinização e dispersão de sementes (Reis et al., 1999).

Piña-Rodrigues et al. (1989), sintetizando vários trabalhos sobre a sucessão florestal, caracterizam três grupos ecológicos distintos no processo de

ocupação de clareiras e sucessão secundária: pioneiras, oportunistas (secundárias) e climáticas. Nas três situações, aparecem síndromes adaptativas distintas associadas ao processo de sucessão florestal.

De uma maneira geral, as espécies enquadradas como pioneiras ocupam áreas expostas (clareiras grandes ou áreas devastadas pela ação antropomórfica ou áreas com limitações edáficas severas) e são tipicamente heliófitas (se desenvolvem ao sol), enquanto que as climáticas apresentam adaptações para o desenvolvimento no ecossistema florestal maduro, em geral esciófilas (necessitando se desenvolver à sombra em ao menos parte do ciclo de vida). Por sua vez, são enquadradas como oportunistas, ou secundárias, espécies com um amplo número de estratégias intermediárias, ocupando, em geral, situações de clareiras pequenas ou florestas em fases intermediárias de sucessão (florestas em recuperação).

3. OBTENÇÃO DE MATÉRIA-PRIMA E DOMESTICAÇÃO

Duas estratégias básicas têm sido empregadas historicamente para a obtenção de matéria-prima de plantas medicinais: cultivo e extrativismo. A primeira se refere ao cultivo propriamente dito e a segunda se constitui na possibilidade de retirada do produto diretamente do seu ambiente natural.

Nesse contexto, é importante ressaltar que essas possibilidades são dois extremos do processo de domesticação de espécies vegetais.

A domesticação das plantas pode ser entendida como um processo coevolutivo em que, através da seleção, alguns tipos mais apropriados para as necessidades ou interesses do homem são favorecidos, com o objetivo de tornar essas populações mais úteis para o mesmo. Paralelamente à domesticação de uma determinada espécie, o homem produz alterações na paisagem, visando torná-la mais produtiva ou conveniente para sua ação. Essa alteração da paisagem, referenciada como domesticação da paisagem (Clement, 1999), é parte do processo de domesticação como um todo. Dessa forma, a domesticação pode ser considerada como um processo gradativo que vai desde as populações naturais de plantas em seu ambiente original até uma monocultura com um único genótipo, passando por várias situações intermediárias ou diferentes intensidades de alterações genéticas e da paisagem.

As espécies pioneiras (que se implantam a pleno sol em áreas descobertas ou mesmo em áreas degradadas) ou secundárias iniciais no processo de sucessão secundária (processo que caracteriza a recuperação de uma área desmatada, em que as espécies vão se implantando de forma sequencial, segundo suas exigências/características ecológicas), como *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. (marcela), *Bauhinia forficata* Link (pata-de-vaca) e espécies dos gêneros *Baccharis* (carqueja), *Mikania* (guaco) e *Croton*, permitem o uso de estratégias de cultivo como alternativas razoáveis para obtenção dos seus produtos. Tais

espécies podem ser mais facilmente domesticadas e empregadas em plantios.

No entanto, verifica-se como dificuldade principal a exploração intensiva das espécies cujas características ecológicas não permitem tanta alteração da paisagem. Diversas espécies atualmente em uso, como *Ocotea odorifera* (Vell.) Rohwer (= *Ocotea pretiosa* Benth. et Hook.f.) (canela-sassafrás), *Cissampelos pareira* L. (cipó-abuta), *Copaifera langsdorffii* Desf. (copaíba) e outras, são tipicamente climáticas (presentes apenas nas florestas primárias ou secundárias bem desenvolvidas - "maduras"), o que torna o seu cultivo de forma convencional muito difícil (seja pelo seu desenvolvimento característico sob a cobertura da floresta, à sombra das demais espécies, seja pelas suas estratégias reprodutivas, associadas à fauna). Dessa forma, o seu manejo dentro do ecossistema, ou domesticação sem ou com pouca alteração da paisagem, passam a ser alternativas mais razoáveis para obtenção dos seus produtos.

Outrossim, várias espécies de diferentes síndromes adaptativas ocorrem naturalmente em áreas cujo processo de cultivo agrícola seria inapropriado, seja por condições edafoclimáticas inadequadas, seja pelo alto custo que a adaptação do solo para o cultivo proporcionaria. Esse é o caso de *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reissek (espinheira-santa), que cresce em afloramentos de rochas e solos litólicos em ambientes de Floresta Ombrófila Mista (FOM), ou ainda de *Echinodorus grandiflorus* (Cham. et Schtdl.) Micheli (chapéu-de-couro), que vegeta em áreas alagadas e bastante ácidas. A preparação dessas áreas para o cultivo de qualquer espécie, se não é impossível, envolve elevados custos. Nessas situações, independentemente da síndrome adaptativa da espécie, o manejo de suas populações naturais possibilita a obtenção de renda a partir de áreas não agricultáveis, diminuindo a pressão sobre as demais áreas.

Contudo, a perspectiva de estabelecimento de estratégias que viabilizem o manejo sustentado de uma determinada espécie em seu ambiente natural, ou mesmo sistemas que envolvam plantios das espécies de interesse sem, ou com pouca alteração da paisagem (sistemas agroflorestais), implica na geração de conhecimentos relativos a sua autoecologia, especialmente demografia e biologia reprodutiva, bem como no repasse destas estratégias (tecnologias) para os produtores/extratores envolvidos.

Considerando as características de algumas das principais espécies fornecedoras de recursos e o grau de domesticação (conforme Clement, 1999), pode-se estabelecer para as espécies da Mata Atlântica quatro categorias principais: selvagens em paisagem natural, domesticadas em paisagem natural, selvagens em paisagens alteradas e domesticadas ou em processo de domesticação (Reis et al., 2001).

Assim, como mencionado anteriormente, as espécies pioneiras ou secundárias iniciais no processo de sucessão secundária permitem o uso de estratégias de cultivo, plantios homogêneos (monoculturas) ou heterogêneos (policulturas), como alternativas razoáveis para obtenção dos seus produtos.

No entanto, verifica-se como maior dificuldade a exploração intensiva das espécies cujas características ecológicas dificultam a sua utilização em cultivo convencional.

Contudo, a exploração de plantas de uso medicinal da flora nativa através da extração direta nos ecossistemas tropicais (extrativismo) tem levado, em muitos casos, a reduções drásticas das populações naturais dessas espécies, seja pelo processo predatório de exploração, seja pelo desconhecimento dos mecanismos de perpetuação das mesmas. Assim, o manejo apropriado, fundamentado em conhecimentos tradicionais e/ou em estudos da autoecologia das espécies de interesse, bem como a domesticação e cultivo, aparecem como opções para obtenção da matéria prima de interesse farmacêutico e redução do extrativismo desordenado nas formações florestais.

Por outro lado, ações no sentido da legalização dos processos de extração em populações naturais de plantas são imprescindíveis para a concretização de uma mudança de postura dos produtores/extratores em relação ao extrativismo predatório, e à conservação desses ecossistemas. Da mesma forma, o envolvimento dos produtores/extratores no desenvolvimento de projetos de pesquisa, visando determinar critérios para o manejo sustentável, de forma participante, estimula a co-responsabilidade dos mesmos, na medida em que se constituem em atores do processo de pesquisa e gestores diretos dos resultados, em benefício do aumento e manutenção de sua própria renda a médio e longo prazo, em conjunto com a conservação da espécie.

4. CULTIVO

O cultivo de plantas medicinais envolve a possibilidade de domesticação da espécie a ser utilizada e a necessidade de alteração da paisagem. Tal possibilidade implica o domínio tecnológico de todas as etapas de desenvolvimento da espécie. Assim, a estratégia de obtenção de biomassa requer um conhecimento da forma de propagação, adaptação ao ambiente de cultivo, forma de crescimento, senescência, etc.

Um elemento fundamental a ser considerado no cultivo de plantas medicinais é a necessidade de se associar à produção de biomassa a qualidade da planta enquanto matéria-prima para a fabricação de medicamentos fitoterápicos. Nesse sentido, é preciso almejar uma produtividade ótima, não só de biomassa, mas também do(s) princípio(s) ativo(s) que tornam a planta uma espécie medicinal.

Estudos agrônômicos vêm sendo desenvolvidos visando propor tecnologias pertinentes para o cultivo de plantas medicinais com qualidade. No entanto, a demanda de mercado de produtos fitoterápicos cresce mais rapidamente que a geração e difusão dessas tecnologias, considerando a grande variedade de espécies medicinais cultivadas.

Vários autores têm procurado trazer recomendações gerais e/ou específicas sobre o cultivo de plantas medicinais (Moresco et al., 1994; Corrêa Júnior et al., 1995; Furlan, 1995; Martins et al., 1995). Em linhas gerais, as recomendações seguem como etapas básicas: escolha e preparo da área para cultivo; sistemas de cultivo e tratamentos culturais; colheita, secagem e beneficiamento.

A agricultura praticada de forma orgânica deve ser sempre considerada para a produção de plantas medicinais, em virtude de vários aspectos. Além disso, é importante frisar que existe uma clara tendência do mercado no sentido da valorização do produto orgânico. Para plantas medicinais, essa tendência é ainda mais acentuada, sendo raras as empresas e laboratórios que valorizam a qualidade de seus produtos fitoterápicos, no Brasil, que não exijam a certificação da produção orgânica como pré-requisito para a aquisição de plantas medicinais (CERCCOPA, 2001).

4.1. Escolha da(s) espécie(s) a ser(em) cultivada(s)

O primeiro passo no cultivo é a escolha das plantas que serão cultivadas, para que sejam preparadas as condições necessárias para o bom desenvolvimento das mesmas. O desconhecimento dessas questões pode levar ao insucesso na obtenção dos princípios ativos de interesse, pela não adaptação da planta ao local de cultivo, ou mesmo pela ausência de um órgão, como a flor, que em muitos casos, é a parte da planta utilizada como medicinal (Corrêa Júnior et al., 1994).

Em virtude do número relativamente grande de espécies medicinais demandadas que apresentam bons preços de mercado, comparando-se com culturas agrícolas, é interessante selecionar a espécie tendo como um dos principais critérios a adaptação da mesma às características edafoclimáticas da propriedade em que será cultivada. Assim, por exemplo, solos pedregosos são propícios para o cultivo de espécies como o alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) e a sálvia (*Salvia officinalis* L.); em solos encharcados, o chapéu-de-couro [*Echinodorus grandiflorus* (Cham. et Schltdl.) Micheli] é uma opção interessante; em solos orgânicos e pesados, a cavalinha (*Equisetum giganteum* L.) se adapta muito bem. Tal medida evita uma série de gastos altos e desnecessários para a adaptação do solo às necessidades de cada planta, tais como calagem excessiva, drenagem e outras práticas (Steenbock, 1999).

Na programação do cultivo de espécies medicinais, é pertinente selecionar um conjunto de espécies, a fim de que a renda possa ser distribuída ao longo do ano, em função do escalonamento da colheita. O cultivo de várias espécies apresenta também como vantagem a possibilidade de consórcios e rotações, práticas interessantes para a manutenção do equilíbrio químico e biótico do solo e para o ótimo desenvolvimento de espécies "companheiras", as quais, quando implantadas próximas umas das outras, se autopromovem, por meio

de mecanismos alelopáticos (Corrêa Júnior et al, 1994). Não obstante, o conjunto de espécies cultivadas não deve ser muito grande, de modo a não comprometer a mão-de-obra necessária para o monitoramento da produção de cada espécie com qualidade.

A seleção das espécies a serem cultivadas deve também ser fundamentada por informações de mercado. É importante identificar quais os compradores potenciais para cada espécie, o valor pago, a forma de apresentação da planta proposta por cada comprador (somente folhas, parte aérea inteira, flores sem pedúnculos, inflorescências, etc.), a quantidade comprada e os nichos de mercado. Se possível, é bastante interessante a promoção de contratos anteriormente ao cultivo.

4.2. Escolha e preparo da área para cultivo

O local de cultivo deve guardar semelhança com o local de ocorrência natural da espécie, para que a mesma expresse o seu potencial de produção. O processo de domesticação de espécies vegetais pode levar um tempo expressivo e, no caso das espécies medicinais, além da produção de biomassa, o efeito das técnicas de cultivo sobre a produção dos metabólitos secundários deve ser considerado. Por exemplo, plantas que se desenvolvem à céu aberto, como o capim-cidrão [*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf] necessitam, obviamente, de condições diferentes daquelas plantas que crescem naturalmente sob o dossel de uma floresta, como a pariparoba (*Piper cernuum* Vell.), para que o seu metabolismo funcione normalmente, como já mencionado. Assim, para o cultivo de espécies medicinais é interessante aproveitar os processos de sucessão secundária. A pata-de-vaca (*Bauhinia forficata* Link), por exemplo, pode ser implantada em ruas abertas no interior de capoeiras baixas, aproveitando áreas em regeneração natural. A guaçatonga (*Casearia sylvestris* Sw.), por sua vez, pode ser implantada em consórcios com o sabugueiro (*Sambucus australis* Cham. et Schltdl.), aproveitando a sombra que esta espécie promove. Já o alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) e a alcachofra (*Cynara scolymus* L.) devem ser plantados a pleno sol.

Os locais planos ou pouco inclinados são os mais recomendados para o cultivo a pleno sol, pois minimizam os problemas com a erosão do solo e facilitam a utilização de equipamentos agrícolas quando necessário. O local de cultivo deve ser isolado de áreas que possam contaminar as plantas cultivadas, como fossas, esgotos e trânsito, bem como de áreas em que são aplicados adubos químicos e agrotóxicos. No local de cultivo, igualmente não devem circular animais. Em alguns casos, o isolamento do local de cultivo pode ser implementado a partir do plantio de quebra-ventos e cercas vivas ao seu redor.

O tamanho da área destinada ao cultivo de cada espécie deve ser deter-

minado de acordo com os métodos de propagação, espaçamento de plantio e estimativa de quantidade a ser produzida, bem como em função das épocas de colheita, para que não ocorra acúmulo de material a ser colhido no mesmo período, gerando problemas de disponibilidade de mão-de-obra e de superestimação da capacidade de secagem do secador adotado.

A análise do solo do local de cultivo, indicando as características químicas e físicas do solo, é necessária para que possam ser realizadas práticas de correção e fertilização do mesmo, apresentando às plantas as melhores condições de desenvolvimento. A maior parte dos solos brasileiros são ácidos devido ao seu material de origem, sendo necessária, muitas vezes, a correção dessa acidez para que as plantas possam desenvolver-se normalmente. Em geral, a correção da acidez é procedida por meio da aplicação de calcário. Este corrige o pH, neutraliza o alumínio e o manganês tóxico, além de ser um nutriente vegetal (Primavesi, 1979). Além do calcário, a adubação orgânica, o estímulo à biocenose do solo e a manutenção dos processos de sucessão vegetal, o quanto possível, reduzem gradativamente a acidez (Primavesi, 1979; Götsch, 1995).

A análise do solo fornecerá os teores de alguns nutrientes presentes na amostra, que, caso estejam abaixo do ideal, deverão ser corrigidos com o auxílio de metodologias de adubação orgânica pertinentes. A adubação orgânica pode ser fornecida de várias maneiras, sendo a adubação verde, o composto e o húmus de minhoca as formas mais utilizadas no cultivo de plantas medicinais. A adubação verde é uma prática geralmente interessante a ser procedida antes do plantio, em conjunto com a eventual correção da acidez do solo com calcário. Essa adubação contribui para a reestruturação física e biológica de solos depauperados pelo uso agrícola, dando condições satisfatórias para a implantação do cultivo, especialmente por meio de plantio direto. A adubação orgânica, de forma geral, libera lentamente e de forma constante os nutrientes para as plantas, além de trazer benefícios químicos e físicos para o solo, como a melhoria na estruturação, aeração e drenagem, retenção de água no solo, entre outros (Kiehl, 1985).

Nem sempre as condições ideais para o desenvolvimento e produção de biomassa são as mais adequadas para a produção de princípios ativos de interesse. Geralmente, existe uma boa adaptação às situações que se assemelham àquela de seu local de origem, como solos ácidos e pobres em fertilidade. Isso ocorre com a marcela [*Achyrocline satureioides* (Lam.) DC.], conforme mencionam Corrêa Júnior et al. (1994).

Muitas espécies produzem substâncias ativas quando submetidas a condições de estresse, como uma reduzida disponibilidade de nutrientes no solo, pois em geral o princípio ativo de interesse está associado ao metabolismo secundário da planta que reflete adaptações a condições adversas ou mecanismos de defesa (Coley, 1980).

Mc Alister e van Staden (1995) pesquisaram *Hypoxis hemerocallidea* Fisch. et C.A.Mey., uma planta utilizada medicinalmente por populações sul-africanas, quanto à concentração de metabólitos secundários nos seus rizomas. Os autores verificaram que a concentração era maior em solos pobres, com poucos nutrientes, como os de origem daquela planta. Como o rizoma é o órgão de acumulação dos metabólitos secundários dessa planta, um incremento inicial em biomassa favorecerá uma maior acumulação dos mesmos após o cessar da adubação.

A estruturação física do solo, indicando se o mesmo possui características argilosas ou arenosas, orienta os cuidados com o mesmo, evitando ao máximo os problemas de erosão, decorrentes da sua má utilização.

Após as correções do solo e do conhecimento de suas características, o próximo passo é o seu preparo para o plantio. O preparo convencional, no qual o solo é totalmente revolvido através de arações e gradagens ou com o auxílio de microtrator equipado com enxadas rotativas, apesar de ser prática constante na agricultura, é extremamente danoso à estrutura do solo em regiões tropicais, promovendo em geral sua erosão, elevação do lençol freático e desestruturação dos macro e microporos do mesmo. O cultivo mínimo, onde o solo é revolvido somente na linha de plantio, através da abertura de sulcos, ou o plantio direto, em que o propágulo é depositado diretamente no solo não revolvido, são sistemas de preparo do solo mais apropriados. O plantio direto pode ser efetuado após a roçada ou picagem da cobertura verde, conforme mencionado anteriormente.

No entanto, para o cultivo da maioria das espécies medicinais, a melhor estratégia é a produção de mudas em viveiro, para posterior transplante a campo. Para essas plantas, a abertura de covas para o plantio e a roçada seletiva das plantas espontâneas constitui-se na melhor alternativa. Na cova, deve ser misturada à terra a adubação orgânica, constituída por composto ou húmus de minhoca, em proporções adequadas, de acordo com as exigências de cada espécie e as características do solo (Corrêa Júnior et al., 1994; Steenbock, 1999).

4.3. Sistema de cultivo e tratos culturais

Para o cultivo, a utilização de material de propagação com identificação botânica assegurada é necessária para que se utilize a espécie que produzirá o princípio ativo desejado. Esse é um ponto fundamental no processo, pois um erro nessa fase pode levar ao fracasso no processo de cultivo. A sanidade do material de propagação também é fundamental para que a planta se desenvolva sadia e não contamine o solo e as outras plantas.

As recomendações de plantio variam de acordo com a espécie cultivada, baseadas na forma de propagação, podendo essa ser sexuada ou assexua-

da. Nas espécies com propagação sexuada, utilizam-se sementes que podem ser semeadas diretamente em canteiros ou em covas, como a camomila [*Chamomilla recutita* (L.) Rauschert], a alcachofra (*Cynara scolymus* L.) e o funcho (*Foeniculum vulgare* Mill.), ou em sementeiras para posterior transplante, como a calêndula (*Calendula officinalis* L.) (Moresco e Oliveira, 1995). Em geral, as espécies medicinais exóticas cultivadas no Brasil, apresentam sementes muito pequenas e de alto custo. Assim, recomenda-se preferencialmente, para as espécies de reprodução sexuada, a produção de mudas em sementeiras para posterior transplante, a fim de otimizar a taxa de germinação e a sobrevivência das mudas.

O método de propagação por sementes pode apresentar algumas desvantagens, como a variação genética das plantas originadas das sementes, podendo variar a concentração dos princípios ativos do cultivo, trazendo desdobramentos no padrão de qualidade do material.

Quando se propaga assexuadamente, este efeito é evitado. A maior parte das espécies medicinais cultivadas no Brasil propaga-se bem através de estacas de galhos. Entre essas, pode-se citar o guaco (*Mikania glomerata* Spreng. e *Mikania laevigata* Sch.Bip. ex Baker), a erva-cidreira [*Lippia alba* (Mill.) N.E.Br.], o boldo (*Plectranthus barbatus* Andr.), o alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.), a alfavaca (espécies de *Ocimum*), entre outras. A estaquia de raízes é apropriada para espécies como a hortelã (espécies de *Mentha*), a mil-folhas (*Achillea millefolium* L.) e a melissa (*Melissa officinalis* L.). A estaquia de raízes permite a formação de um grande número de indivíduos a partir de uma única planta mãe. A divisão de touceiras é uma prática de propagação que também possibilita a formação de um grande número de indivíduos, podendo ser empregada com sucesso em espécies como o capim-cidrão [*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf], a carqueja [*Baccharis trimera* (Less.) DC.] e a sálvia (*Salvia officinalis* L.). A mergulhia e a alporquia também podem ser utilizadas. Especialmente para o cultivo de plantas exóticas, cujas sementes alcançam altos preços, constitui-se em estratégia interessante a produção de mudas matrizes em viveiro, a partir de sementes certificadas, as quais poderão ser plantadas na área do próprio viveiro, para o fornecimento de estacas ou touceiras. Essas, por sua vez, são as mudas levadas a campo. As plantas matrizes, doadoras de propágulos para o cultivo, deverão ser sadias, para que resultem em plantas que se desenvolvam bem.

Na tabela I são apresentadas as orientações para o plantio de algumas plantas medicinais.

Após o plantio, os tratos culturais serão responsáveis pelo sucesso no desenvolvimento das plantas. A água é imprescindível no cultivo das plantas medicinais. Visto que a necessidade varia entre as espécies, deve-se irrigá-las sempre que necessário, pois um estresse hídrico pode ser irreversível, causando a morte da planta.

TABELA 1
Orientações para o plantio de espécies medicinais
empregadas no programa integrado de fitoterapia da prefeitura de Curitiba,
adaptado de Moresco et al. (1994)

Planta	Nome científico	Local	Observações
alfavaca	<i>Ocimum gratissimum</i> L. <i>O. basilicum</i> L.	sementeira ou definitivo	plantio em local definitivo, raleio 2 a 3 semanas após germinação
burdana	<i>Arctium minus</i> Bernh. <i>A. lappa</i> L.	definitivo	plantio em sulcos com posterior raleio
calêndula	<i>Calendula officinalis</i> L.	definitivo	raleio 15 dias após germinação
camomila	<i>Chamomilla recutita</i> (L.) Rausch	definitivo	misturar sementes com areia fina p/ semeadura e em seguida passar corrente a prancha p/ aumentar contato com o solo
capim-limão	<i>Cymbopogon citratus</i> (DC.) Stapf.	definitivo	
carqueja	<i>Baccharis</i> sp.	definitivo	
confrei	<i>Symphytum officinale</i> L.	definitivo	
erva-cidreira	<i>Melissa officinalis</i> L.	sementeira ou estacas	
espínheira-santa	<i>Maytenus ilicifolia</i> Mart. ex Reissek	sementeira c/ produção de mudas no viveiro	o crescimento da planta é lento; 25 cm/ano
funcho	<i>Foeniculum vulgare</i> Mill.	definitivo	
guaco	<i>Mikania glomerata</i> Spreng.	estacas (viveiro)	2 a 3 meses para formar muda; necessita de espaldeira e poda de formação
malva	<i>Malva sylvestris</i> L.	sementeira ou estacas	2 a 2,5 meses para formação da muda
marcela	<i>Achyrocline satureioides</i> (Lam.) DC.	sementeira	não cobrir as sementes com terra
mentrasto	<i>Ageratum conyzoides</i> L.	sementeira	plantar jan/fev - melhor produtividade; transplantar com 6 a 8 folhas definitivas
pata-de-vaca	<i>Bauhinia forficata</i> Link	sementeira ou estacas	transplantar mudas com 30 cm
pronto-sólvio	<i>Achillea millefolium</i> L.	definitivo	rizomas c/ 10 a 30 cm; plantio c/ prof. de 30 cm
sálvia	<i>Salvia officinalis</i> L.	sementes, estacas ou divisão de touceiras	
tanchagem	<i>Plantago major</i> L.	definitivo	raleio 2 a 3 semanas após germinação

A adubação de cobertura pode ser realizada através da aplicação de adubos foliares orgânicos – os biofertilizantes. Existem variadas receitas para a elaboração de biofertilizantes. Em geral, esses atuam não apenas no fornecimento de nutrientes à planta, mas também na promoção do equilíbrio nutricional e da proteossíntese no interior das células e na seiva, o que torna a planta menos suscetível à ação de predadores e parasitas (Chaboussou, 1987).

Em muitos casos torna-se necessária a realização do desbaste no plantio, como ocorre com o coentro (*Coriandrum sativum* L.) (Martins et al., 1995),

diminuindo-se a competição intraespecífica, pela diminuição da população de plantas que ocupariam o mesmo espaço, competindo por água, luz e nutrientes, entre outros recursos.

A poda da planta é outra prática cultural necessária para muitas espécies, tanto para a retirada de ramos secos e doentes quanto para uma poda de formação de copa e condução dos ramos, como ocorre para a pata-de-vaca (*Bauhinia forficata* Link). Uma poda drástica nem sempre é a recomendada, pois prejudica a nutrição dos ramos restantes. Um menor rendimento é compensado por um maior tempo de vida da planta.

O controle de plantas espontâneas deve ser realizado principalmente no início da germinação das sementes plantadas, pois nesse estágio de desenvolvimento as plântulas são mais sensíveis à competição interespecífica. Uma maneira de controle, nessa fase, é a utilização do plantio direto como prática de preparo do solo, pois a cobertura morta controlará a germinação das ervas indesejáveis. Com o crescimento/desenvolvimento das plantas cultivadas, as plantas espontâneas poderão ser controladas através de uma roçada seletiva, mantendo espécies úteis no processo de sucessão. Nem sempre a presença de ervas invasoras é prejudicial ou indesejada, muitas vezes serão elas que servirão de alimento para predadores, reduzindo os danos provocados pelos insetos. A aplicação de herbicidas para o controle de plantas espontâneas não é recomendada, pois a contaminação das plantas medicinais por resíduos tóxicos poderá causar outros males ao invés de curar as doenças, além de causar diminuição na concentração dos princípios ativos, como indicam Mac Alister e van Staden (1995).

A ocorrência de pragas e doenças no cultivo pode ser controlada através de práticas culturais, como manejo adequado do solo, rotação de culturas, consórcios e uso de material de propagação sadio. Para o controle específico de pragas e doenças, podem ser utilizados métodos alternativos, como a catação manual de insetos, eliminação de plantas ou galhos doentes, além da aplicação do macerado de fumo, da solução de água e sabão e do extrato de alho e pimenta e de biofertilizantes. As próprias plantas medicinais podem ser utilizadas para o controle de fungos, como discutem Dixit et al. (1994), com as folhas de mentrasto (*Ageratum conyzoides* L.) e Mohamed et al. (1994) com extrato de maracujazeiro (*Passiflora edulis* Sims). O mesmo ocorre contra o ataque de cigarrinhas e lagartas, como mostrou Stein et al. (1990) com extrato de espécies do gênero *Chrysanthemum*. O suco de flores de camomila [*Chamomilla recutita* (L.) Rauschert], por sua vez, pode ser utilizado no controle de fungos causadores de tombamento (*dumping-off*) de plântulas em viveiro (Corrêa Júnior et al., 1994).

A estratégia básica é propiciar às plantas um ambiente equilibrado, onde as mesmas não sofrerão distúrbios fisiológicos, ficando menos sujeitas ao ataque de pragas e doenças.

4.4. Colheita, secagem e armazenamento

Em geral, as espécies apresentam épocas específicas em que contêm maior quantidade de princípio ativo no seu tecido, podendo esta variação ocorrer tanto no período de um dia como em épocas do ano.

Martins et al. (1995) mencionam que, de acordo com a substância ativa da planta, existem horários em que a concentração desses princípios é maior. No período da manhã é recomendada a colheita de plantas com óleos essenciais e alcalóides, e no período da tarde plantas com glicosídeos. Este critério é importante no que diz respeito à qualidade química do produto, pois uma baixa concentração da substância ativa no material pode levar a uma desconfiança na pureza do produto.

Deve ser observada a identificação correta do órgão da planta a ser coletado. De acordo com o mercado, podem haver variações de demanda nesse sentido. A camomila [*Chamomilla recutita* (L.) Rauschert], por exemplo, apresenta princípios ativos de interesse em suas flores. Alguns laboratórios estabelecem padrões de tamanho máximo do pedúnculo floral que pode vir acompanhando as flores. Alguns atacadistas de plantas medicinais exigem somente folhas de espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reissek), enquanto outros adquirem folhas e ramos da espécie, apesar dos princípios ativos se concentrarem nas folhas.

O conhecimento do momento correto de coleta do material desejado leva à obtenção de produtos de melhor qualidade (tabela 2). Geralmente, essa variação ocorre em função do estágio em que se encontra a planta, como na plena floração ou no período que antecede a floração. Sem o conhecimento de como realizar a colheita e de como proceder após a mesma pode-se perder todo o trabalho anteriormente despendido.

A utilização de ferramentas apropriadas é uma maneira de se evitar danos às plantas. O instrumento de corte no momento da colheita deve ser afiado, para que a cicatrização ocorra o mais breve possível, pois as aberturas no tecido das plantas favorecem a contaminação por doenças e pragas.

TABELA 2

Partes das plantas utilizadas e épocas de colheita, conforme recomendações da EMATER-DF (1988)

Parte utilizada	Quando colher
Folhas e planta inteira	pré-floração
Flores	bem abertas
Frutos	bem maduros
Sementes	bem desenvolvidas
Cascas e raízes	outono e início de inverno

A partir do momento da colheita inicia-se um processo de degradação enzimática na planta, que leva também à degradação dos princípios ativos. O menor período de tempo entre a colheita e a secagem é crucial para a manutenção da integridade máxima dos princípios ativos.

O recipiente de coleta do material colhido não deverá danificá-lo, pois o esmagamento das plantas acelera a degradação das mesmas. A incidência de raios solares sobre o material colhido também acelera a degradação de substâncias das plantas. A secagem ao sol, além de promover a degradação de princípios ativos, acaba por gerar uma secagem rápida das bordas dos órgãos vegetais e a criação de uma crosta relativamente impermeável à água nessas regiões. O material, em pouco tempo, se apresenta aparentemente seco. No entanto seu interior permanece úmido. A secagem deve, portanto, ser procedida ao abrigo da luz, em secadores que promovam ambiente limpo, bem ventilado e protegido do ataque de insetos e outros animais. A geração de um aumento artificial de temperatura é de extrema importância. Para a secagem de folhas e flores a temperatura deve estar em torno de 38°C. Para cascas e raízes, temperaturas de até 60°C são aceitáveis (Corrêa Júnior et al, 1994; Steenbock, 1999). Temperaturas acima desses limites aceleram o processo de secagem, promovendo a degradação de muitos princípios ativos. A elevação artificial da temperatura pode ser gerada a partir da energia solar, durante o dia. À noite, entretanto, a temperatura deve ser mantida com o uso de fornalhas à lenha ou gás, ou ainda com o auxílio de conversores de energia elétrica em calor (resistências). Caso isso não ocorra, a diminuição da temperatura durante a noite pode promover a reabsorção de água pelas plantas, retardando o processo de secagem.

A secagem das plantas deve ser individual, para não haver mistura de elementos voláteis. A separação das partes das plantas mais úmidas - como ramos - de partes mais secas - como folhas - deve ser feita para que o material esteja pronto no mesmo tempo de secagem (Corrêa Júnior et al., 1994). Na tabela 3, são apresentadas informações quanto à colheita e secagem de algumas plantas medicinais.

O período de armazenamento deve ser o menor possível, pois com o passar do tempo podem ocorrer perdas qualitativas e/ou quantitativas nas substâncias ativas das plantas, como mencionado por Petrovick et al. (1997) para *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. (marcela). O local destinado ao armazenamento deve ser seco, escuro, arejado e isolado da presença de pragas. Assim como na secagem, as plantas também deverão ser armazenadas isoladamente, cada espécie numa embalagem para que não ocorra a mistura. Uma opção interessante é a armazenagem das plantas em sacos duplos, um de papelão e outro de plástico transparente, a fim de garantir a resistência e o abrigo à luz (Steenbock, 1999).

TABELA 3

Orientações para a colheita e secagem de espécies medicinais empregadas no programa integrado de fitoterapia da prefeitura de Curitiba, adaptado de Moresco et al. (1994)

Nome da planta	COLHEITA			PARTES UTILIZADAS	OBSERVAÇÕES
	INÍCIO	ÉPOCA	HORARIO		
Alfavaca	2º ano	dez/jan e abr/mai	manhã	ramos após 2ª par de folhas	duas colheitas/ano
Bardana	3º/4º mês (f) 4º ano (f)	3/3 meses (f) outono (f)	tarde	folhas e raízes	antes de secar, separar limbo do pecíolo, colocar as raízes.
Calêndula	3º mês	floração plena	tarde	capítulos florais	colheita em várias passadas
Camomila	3º mês	floração plena	manhã	capítulos florais	colheita em várias passadas
Capim-limão	6º mês	1ª cone dez. 2ª abr/mai	manhã	folhas	picar antes de secar
Cacoeira	5º mês	início da floração	manhã	planta toda	2-3 colheitas/ano
Cedrela	4º mês	2 em 2 meses	manhã	folhas	6 a 8 colheitas/ano
Erva-cidreira	6º mês	pré-floração	manhã	ramos	colher a 10 cm do solo, secar no escuro à sombra cor verde
Euphorbia-bata	6º ano	primavera/verão		ramos (30% da planta)	
Funcho	5º mês	final da maturação dos frutos	manhã	umbelas com frutos em ponto de colheita	ponto de colheita: frutos nem muito acidentado, nem as umbelas sobre tela e umbelas a secagem
Guaco	8º mês	floração	tarde	ramos verdes com folhas e flores	colher antes das 1ª geadas
Malva	6º mês	floração	manhã	folhas	colher planta toda e separar as partes antes da secagem
Marcela	6º mês	floração plena	manhã	flores	colheita feita de uma só vez (70-80% flores desabrochadas)
Menta	4º mês	floração	manhã	toda parte aérea	2 cortes/ano
Mentasto	3º mês	pré-floração	manhã	planta toda	
Passo-de-vaca	3º ano	verão	tarde	podar ramos com folhas	destacar folhas após secagem
Pronto-solvente	4º mês	floração plena	manhã	sumidades floridas	até 2 colheitas/ano
Salvia	5º mês	dez/jan e abril/mai	manhã	parte aérea, 15 cm acima do solo	separar folhas após secar, após 2º ano 2 cortes anuais
Tanchagem	5º mês	antes da emissão do pendão floral	tarde	folhas	2 a 3 colheitas/ano

5. MANEJO DE POPULAÇÕES NATURAIS DE ESPÉCIES DE USO MEDICINAL

Como já mencionado, o domínio da Mata Atlântica apresenta uma vocação tipicamente florestal, implicando a necessidade de manutenção da cobertura florestal original. Assim, a existência de alternativas de exploração/obtenção de produtos florestais, de forma sustentável, apresenta-se como uma opção de estímulo aos proprietários de terra para a conservação desse ecossistema. Dessa forma esta abordagem representa uma situação de domesticação da espécie sem (ou com pouca) alteração da paisagem.

Nesse contexto, a concepção de sistema de manejo em regime de rendimento sustentado proposta em Fantini et al. (1992) para espécies florestais em geral e adaptada por Reis (1996) para espécies de uso medicinal mostra-se interessante. Ele se fundamenta em dois aspectos básicos: o caráter cíclico da exploração e o equacionamento da exploração de cada espécie individualmente (aspecto que a diferencia das demais). Assim, para a garantia da exploração cíclica, deverão ser observados aspectos da demografia e da biologia reprodutiva de cada espécie a ser manejada. Dessa forma, a avaliação da biomassa existente e suas taxas de incremento, bem como a dinâmica da re-

geração natural (indivíduos jovens que compõem a estrutura populacional) e o número de indivíduos reprodutivos necessários para manutenção da estrutura populacional original (em termos demográficos e genéticos), para cada espécie, torna-se imprescindível para a perpetuação do processo. Ou seja, essa proposta de manejo exige uma abordagem dinâmica, prevendo a exploração baseada na autoecologia e crescimento de cada espécie a ser explorada, considerando-a em consórcio com a floresta como um todo (Fantini et al., 1992).

O incremento mencionado deve ser considerado em termos da variável de interesse (associada como desenvolvimento do órgão da planta a ser explorado). Para as espécies de uso medicinal, pode-se seguir a mesma linha: caso os órgãos de interesse sejam as folhas, a variável pode ser número de folhas, matéria seca acumulada, comprimento dos ramos ou outra variável associada; caso seja a raiz, ou uma túbera, a variável pode ser o diâmetro da túbera, ou comprimento da raiz, etc.; no caso das lianas, em que quase todo o organismo é utilizado, poderia se avaliar o incremento em termos de comprimento do ramo ou matéria seca acumulada (Reis, 1996).

Neste sentido, Steenbock et al. (2002), visando determinar critérios para o manejo sustentável de *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reissek (espinheira-santa), identificaram expressiva correlação entre o número de ramos primários e o rendimento da matéria seca de folhas – a variável de interesse. Nesse caso, a avaliação do incremento do número de ramos pode, além de indicar a biomassa, servir de base para a estimativa da quantidade de folhas a ser colhida em determinada área.

A garantia de continuidade do processo exploratório está relacionada à manutenção da estrutura genética das populações da espécie sob manejo, a qual tem implicações na reposição do estoque pela regeneração natural, garantindo a sustentabilidade do ecossistema pela manutenção da diversidade. Assim, a definição do número e distribuição dos indivíduos em fase reprodutiva que permanecerão - não serão retirados - para dar continuidade a regeneração natural pela produção periódica de sementes inclui aspectos genéticos e ecológicos, como ressaltam Reis (1996) e Reis et al. (1999).

Ressalta-se que, independentemente do número de espécies a serem exploradas, a complexidade do ecossistema deve ser encarada como suporte do seu equilíbrio natural e deve, portanto, ser preservada. Fica, então, evidente a necessidade do acompanhamento permanente, não só das espécies eleitas, mas também, de todas as outras espécies da comunidade vegetal. Esse acompanhamento possibilita o monitoramento da dinâmica da comunidade ao longo do tempo, acusando possíveis desvios do equilíbrio desejado.

A manutenção da cobertura florestal, como decorrência da aplicação do sistema, apresenta-se como o aspecto de maior relevância, pois evita a erosão e o depauperamento do solo, permite a manutenção dos recursos hídricos e, principalmente, possibilita a preservação da diversidade biológica existente.

Como vantagem direta, o sistema permite a possibilidade de obtenção continuada dos produtos da floresta (madeira, lenha, substâncias medicinais, plantas ornamentais, alimentos, fauna, etc.), trazendo benefícios ao manejador e ao setor industrial. Assim, alia os benefícios sociais da manutenção da cobertura florestal às vantagens econômicas de sua exploração (Godoy e Bawa, 1993; Sheldon et al., 1997; Reis et al., 1999).

Neste sentido, as espécies medicinais são uma opção concreta e vantajosa, pois o escalonamento da sua exploração possibilitaria a retirada contínua de matéria-prima todos os anos. Outras espécies não-fornecedoras de madeira como palmito (Reis et al., 2000), frutíferas, condimentares e ornamentais, animais, turismo ecológico entre outras fontes, complementarão a renda por unidade de área possível de ser manejada nestas comunidades.

A ferramenta básica para a possibilidade de obtenção de informações contínuas é o inventário florestal com parcelas permanentes. Tal ferramenta permitirá a caracterização do número de indivíduos existentes por classe da variável de interesse, bem como das curvas de incremento (considerando duas ou mais avaliações). A caracterização do sistema reprodutivo, fenologia, forma de polinização e dispersão de sementes, bem como a dinâmica da regeneração natural das espécies de interesse, também podem ser realizadas utilizando-se como base indivíduos da área das parcelas permanentes, ou a partir da literatura existente (quando disponível). Mariot et al. (1999) propõem estratégias de manejo de *Piper cernuum* Vell. (pariparoba), *Piper gaudichaudianum* Kunth (iaborandi) e *Piper cf. lhotzkyanum* (Miq.) Kunth (apepa-huan) a partir da avaliação destes aspectos.

De uma maneira geral, as estratégias a serem adotadas devem levar em conta se o indivíduo inteiro será explorado ou abatido ou se apenas um órgão (folha, raiz, fruto, etc.) ou parte do indivíduo será retirado e se a espécie se desenvolve a pleno sol (como as pioneiras) ou se necessita estar à sombra das demais (como as climáticas, especialmente as do sub-bosque) (Reis, 1996).

Para as espécies pioneiras, tipicamente heliófitas, como *Baccharis trimera* (Less.) DC. (carqueja) (Klein, 1980), *Hyptis umbrosa* Salzm. ex Benth. (hortelã-do-mato) (Harley, 1985) e *Cordia verbenacea* DC. (erva-de-baleeira) (Smith, 1970), ou mesmo oportunísticas ou secundárias com estratégias adaptativas próximas a pioneiras, como *Bauhinia forficata* Link (Guimarães, 1994), poderiam ser recomendadas estratégias de cultivo tradicional ou convencional, pois as mesmas se adaptam a esse tipo de condição. Ou, então, manejá-las em formações secundárias onde elas ocorrem, valorizando e possibilitando a retomada da dinâmica dessas formações, especialmente nas áreas com vocação florestal.

As espécies climáticas, bem como grande parte das oportunísticas (secundárias), apresentam estratégias de desenvolvimento e reprodução que implicam a necessidade de permanecerem à sombra das demais em parte de sua

vida (aquelas que ocupam o dossel, como *Ocotea pretiosa* Benth. et Hook.f.) ou em todo o seu ciclo, naquelas que ocupam os estratos intermediários e inferiores da floresta, como *Hedyosmum brasiliense* Miq. (cidrão) (Klein, 1980) e a liana *Strychnos trinervis* (Vell.) Mart. (quina-cruzeiro, cipó-cruzeiro) (Smith et al., 1976). Assim, as estratégias de manejo aqui mencionadas são praticamente imprescindíveis à possibilidade de obtenção dos produtos de interesse provenientes destas espécies, sendo difícil a adaptação às estratégias usuais de cultivo.

Pode-se observar, pelos exemplos anteriores, que o conhecimento da biologia reprodutiva e de aspectos da demografia das espécies (ou da autoecologia de uma maneira geral) são imprescindíveis para uma definição adequada da forma e intensidade de manejo das espécies dentro da floresta.

A avaliação da diversidade genética de populações naturais é outro instrumento de igual importância, na medida em que permite identificar o fluxo gênico nas populações, consequência direta dos processos de polinização e dispersão de sementes. Esse conhecimento permite inferir práticas de manejo que visem a conservação não apenas de indivíduos, mas da diversidade genética da espécie como um todo, na área manejada. Diversas espécies da Mata Atlântica têm sido caracterizadas geneticamente a partir dessa abordagem (LARGEA/ESALQ-USP; NPFT/UFSC; LEE/ESALQ-USP; EMBRAPA-Colombo), especialmente empregando marcadores alozímicos ou em alguns casos marcadores microssatélites: cedro (*Cedrela fissilis* Vell.), palmitreiro (*Euterpe edulis* Mart.), pata-de-vaca (*Bauhinia forficata* Link), espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reissek, *M. aquifolium* Mart.), pinheiro-brasileiro [*Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze], pariparoba (*Piper cernuum* Vell.), genipapo (*Genipa americana* L.), caxeta (*Tabebuia cassinoides* DC.), paineira (*Chorisia speciosa* A.St.-Hil.), aroeira (*Myracrodruon urundeuva* Allemão), canela-amarela (*Cryptocarya moschata* Nees et Mart.), peroba (*Aspidosperma polyneuron* Müll.Arg.), entre outras (Reis et al., 2001).

Esforços no sentido da geração de índices tecnológicos que permitam a exploração sustentada de espécies de uso medicinal poderão fundamentar a regulamentação da sua exploração agregando, portanto, esforços no sentido da conservação dos remanescentes dos ecossistemas florestais tropicais.

Critérios mínimos, como o número de indivíduos reprodutivos que devem permanecer, ou a quantidade de biomassa remanescente necessária para repor a biomassa explorada num dado ciclo, possibilitam a regulamentação do processo exploratório numa perspectiva conservacionista. Assim, a possibilidade de obtenção de renda por parte dos produtores/extratores implica estabelecer uma intensidade de exploração que permita continuidade do processo e um investimento na manutenção da área de produção, logo, na conservação do ecossistema.

Entretanto, o emprego das informações geradas (tecnologias) por parte

dos produtores depende não apenas da consistência dessas informações, mas principalmente da perspectiva de garantia de possibilidade de exploração, ou seja, da legalização do processo. O exemplo do palmiteiro (*Euterpe edulis* Mart.) (Reis et al., 2000) pode ser bastante elucidativo.

No Vale do Rio Ribeira do Iguape (Sudeste de São Paulo) várias espécies são exploradas de forma predatória, comprometendo inclusive a própria atividade, pela redução das populações naturais de algumas espécies (Reis, 1996). Entre as nativas mais exploradas na região, conforme Di Stasi et al. (2002), encontram-se: guaco (espécies de *Mikania*), carqueja [*Baccharis trimera* (Less.) DC.], iaborandi (*Piper gaudichaudianum* Kunth), goiabeira (*Psidium guajava* L.), pariparoba (*Piper cernuum* Vell.), embaúba (*Cecropia* spp.), *apepa-huan* (*Piper* sp.), chapéu-de-couro (espécies de *Echinodorus*), pata-de-vaca (*Bauhinia forficata* Link) e erva-de-baleeira (*Cordia verbenacea* DC.). É especialmente interessante ressaltar que todas essas espécies adaptam-se bem a situações de formações florestais secundárias.

Estudos realizados envolvendo aspectos farmacológicos, de auto-ecologia e do manejo de populações naturais com espécies da flora nativa comumente exploradas no Vale do Ribeira (Di Stasi et al., 1999; Mariot et al., 1999; Reis et al., 1999) têm permitido fundamentar o uso sustentável de algumas espécies medicinais por comunidades remanescentes de quilombos (Ribeiro, 2001) e podem servir de modelo de pesquisa e desenvolvimento para o uso sustentável de recursos naturais. Nesta ótica, Ribeiro (2001) demonstrou a rentabilidade e viabilidade do uso de diversas espécies medicinais e a potencialidade de outras em sistemas que favoreçam a conservação dos recursos naturais.

Assim, o manejo apropriado, fundamentado em conhecimentos tradicionais e/ou em estudos da auto-ecologia das espécies de interesse, bem como a domesticação e cultivo, aparecem como opções para obtenção da matéria prima de interesse farmacêutico e redução do extrativismo desordenado nas formações florestais.

Entretanto, como mencionado anteriormente, a adoção destas novas tecnologias não depende apenas da consistência das informações geradas. A legalização do processo de exploração é de extrema importância. Essa legalização implica a normatização do Decreto Lei 750/93, que dá proteção especial à Mata Atlântica.

No Estado de São Paulo, por exemplo, está em vigor a Portaria 052/98 (DEPRN – SMA/SP), que normatiza a liberação para exploração de plantas medicinais e ornamentais. Esta regulamentação, baseada em discussões entre o DEPRN com produtores, cientistas, técnicos da produção e da fiscalização, ao mesmo tempo em que permite a legalização das ações clandestinas, permite propostas experimentais em áreas e tempo restritos, favorecendo o acúmulo de informações técnicas e experiências tradicionais de extrativismo, de modo a permitir uma ampla inclusão social no processo de produção sus-

tentável. No entanto, até o momento, essa é a única regulamentação específica existente para extração de espécies medicinais nativas na Mata Atlântica.

Por outro lado, continua em vigor, para a extração florestal de plantas medicinais, a Portaria Normativa 122-P, de 19 de março de 1985. Essa regulamentação estabelece normas ao registro de pessoas físicas ou jurídicas que consumam, explorem ou comercializem matéria-prima florestal, inclusive plantas medicinais. No art. 46 dessa Portaria fica determinada a obrigatoriedade da reposição do material colhido proveniente de plantas medicinais, aromáticas ou tóxicas, nativas, nas proporções mencionadas na tabela 4. Contudo, além de não serem cumpridas, tais recomendações não apresentam qualquer relação com características biológicas, ecológicas ou tecnológicas das espécies nativas que vêm sendo exploradas, e, portanto, não expressam nenhuma garantia de continuidade dos processos biológicos ou mesmo tecnológicos envolvidos na exploração destas espécies.

TABELA 4

Exigências referidas na Portaria Normativa nº 122-P, de 19 de março de 1985 (IBAMA) referentes a obrigatoriedade* da reposição do material colhido proveniente de plantas medicinais, aromáticas ou tóxicas, nativas

1. Plantas herbáceas	Exigência de reposição
- 1 kg de folhas	4 mudas
- 1 kg de caule	8 mudas
- 1 kg de raiz	12 mudas
2. Plantas arbustivas	
- 3 kg de folhas	1 muda
- 1 kg de casca	3 mudas
- 1 kg de lenho	2 mudas
- 1 kg de raiz	4 mudas
3. Plantas arbóreas	
- 5 kg de folhas	1 muda
- 1 kg de casca	2 mudas
- 1 kg de lenho	1 muda
- 1 kg de raiz	3 mudas

* como mencionado no texto, além de não serem cumpridas, tais recomendações não apresentam qualquer com características biológicas, ecológicas ou tecnológicas das espécies nativas que vêm sendo exploradas.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Apesar da crescente demanda, ainda é relativamente pequeno o conhecimento acumulado sobre cultivo ou manejo de populações naturais de plantas medicinais da flora nativa. Mesmo das espécies exóticas, a geração de co-

nhecimento e adaptação tecnológica relativas ao cultivo também mostra grandes carências.

Informações que permitam maximizar os processos de produção de biomassa vegetal, mantendo os teores das substâncias de interesse ainda necessitam grandes refinamentos. Aparentemente, a reduzida quantidade de pessoal com formação na área, atuando em pesquisa, é um dos principais fatores limitantes.

Por outro lado, a megadiversidade brasileira ainda é pouco conhecida, permanecendo como o maior potencial de obtenção de novos produtos farmacêuticos. Contudo, aliado ao desconhecimento do potencial dessa diversidade, está o desconhecimento de características de biologia reprodutiva e estrutura populacional mesmo das espécies de uso mais intensivo, como a espíndrea-santa. Assim, os processos de extrativismo predatório ainda perduram e somente a geração e o acesso a informações que permitam a estruturação de tecnologias pertinentes aos ambientes e diversidade existentes, de forma articulada entre pesquisadores, extratores/agricultores e comunidade em geral podem mudar este quadro.

Em qualquer situação, os aspectos aqui levantados convergem para a necessidade permanente da formação e emprego de recursos humanos de alto nível, de forma que a formação de recursos humanos nesta área é a questão principal para a possibilidade de avanços.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABIFITO – Associação Brasileira de Indústrias de Fitoterápicos. Perspectivas do setor de fitoterápicos. In: IBAMA/CENARGEN. REUNIÃO TÉCNICA SOBRE RECURSOS GENÉTICOS DE PLANTAS MEDICINAIS E AROMÁTICAS – Estratégias para Conservação e Manejo Sustentável, I. Relatório (não publicado). Brasília, 2001.
- BAWA, K.S. Breeding systems of trees species of lowland tropical community. *Evolution*, v. 28, p.85-92, 1974.
- BAWA, K.S. Mating systems, genetic differentiation and especification in tropical rain forests plants. *Biotropica*, v. 24, p.250-255, 1992.
- BELTRATI, C.M.; PAOLI, A.A.S. Morfologia, anatomia e desenvolvimento de sementes e plântulas de *Bauhinia forficata* Link. (Leguminosae-Caesalpinoideae). *Rev. Bras. Biol.*, v. 49, n. 2, p. 583-590, 1989.
- BLANCO, M.C.S.G. Biomassa e mucilagem da tanchagem (*Plantago major* L.), em função das adubações orgânica, mineral e mista e da supressão das inflorescências. In: MING, L.C. (Coord.). *Plantas medicinais, aromáticas e condimentares – avanços na pesquisa agrônômica*. Botucatu: UNESP, v.2, 1998.
- BORELLA, J.C.; FONTOURA, A.; MENEZES JR., A.; FRANÇA, S.C. Influência da adubação mineral (NPK) e sazonalidade no rendimento e teor de flavonóides em indivíduos masculinos de *Baccharis trimera* (Asteraceae-carqueja). *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, v. 4, n. 1, 2001.
- BRASIL, Ministério da Saúde, Secretaria de Políticas Públicas de Saúde. *Proposta de política nacional de plantas medicinais e medicamentos fitoterápicos*. Brasília, 2001. 38p.

- BRITO, A.R.M.S.; BRITO, A.A.S. Forty years of brazilian medicinal plant research. *J. Ethnopharmacol.*, v. 39, p. 53-67, 1993.
- BROWN, J.R.K. O papel dos consumidores na conservação e no manejo de recursos genéticos florestais *in situ*. *Scientia Florestalis*, v. 37, p. 61-69, 1987.
- CARRICONDE, C. Fitoterapia em saúde pública. In: Congresso Sul Brasileiro de Plantas Medicinais, 1. *Anais...* Maringá, UEM, 1999.
- CERCCOPA – Central Regional de Comercialização do Centro-Oeste do Paraná. *Relatório de mercado de plantas medicinais - 2001*. Guarapuava: CERCCOPA, 2001. 18p.
- CHABOUSSOU, F. *Plantas doentes pelo uso de agrotóxicos – a teoria da trofobiose*. Porto Alegre: LPM, 1987.
- CLEMENT, C. 1492 and the loss of amazonian crop genetic resources. I. The relation between domestication and human population decline. *Economic Botany*, v. 53, n. 2, p. 188-202, 1999.
- COLEY, P.D. Effects of leaf age and plant life history patterns on herbivory. *Nature*, v. 284, p. 545-546, 1980.
- CORRÊA JÚNIOR, C.; MING, L.C.; SCHEFFER, M.C. *Cultivo de plantas medicinais, condimentares e aromáticas*. 2 ed., Jaboticabal: FUNEP, 1994. 162p.
- CORRÊA JÚNIOR, C. Unidades de plantas potenciais, medicinais-aromáticas. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 14. *Resumos* Florianópolis, Departamento de Farmacologia – UFSC, 1996.
- COSTA, C.C.; CASALI, V.W.D.; MACEDO, J.A.B. Qualidade de folhas de guaco (*Mikania glomerata* Sprengel) após secagem e embalagem. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, v.1, n. 2, 1999.
- COSTA, C.C.; CASALI, V.W. D.; ANDRADE, N.J. Avaliação da droga *Vernonia polyanthes* L. – “assa-peixe” obtida a partir de dois métodos de secagem e em duas épocas de coleta. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, v. 1, n. 2, 1999.
- De CANDOLE, A.P.; BIAZI, L. A.; De BONA, C.M. Propagação de carqueja (*Baccharis trimera* (Less.) por meio de estaquia. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, v. 2, n. 2, 2000.
- DENSLOW, S.S. Gap partitioning among tropical rain forest trees. *Biotropica*, v. 12, p. 47-55, 1980.
- DERPSCH, R.; ROTH, C.H.; SIDIRAS, N.; KÖPKE, U. *Controle da erosão no Paraná, Brasil: sistemas de cobertura do solo, plantio direto e preparo conservacionista do solo*. Curitiba: IAPAR, 1991. 272p.
- DI STASI, L.C. (org.). *Plantas medicinais: arte e ciência. Um guia de estudo interdisciplinar*. São Paulo: UNESP, 1996. 230p.
- DI STASI, L.C.; STIPP, E.J.; FASCINELLI, M.L.; GONZALEZ, F.G.; MARIOT, A.; REIS, M.S. Agregação de valor a um produto florestal manejado: 2. Pariparoba e outras Piperaceae como novos produtos para comercialização. In: DIEGUES, A.; VIANA, V. *Comunidades tradicionais e manejo dos recursos naturais da mata atlântica*. São Paulo: NAPAUB/ LASTRP, 2000. p.65-80.
- DI STASI, L.C.; OLIVEIRA, G.P.; CARVALHAES, M.A.; QUEIROZ-JR, T.O.S.; KAKINAMI, S.H.; REIS, M.S. Medicinal plants popularly used in Brazilian Tropical Atlantic Forest. *Fitoterapia*, v.73, p. 69-91. 2002.
- DIXIT, S.N.; CHANDRA, H.; TIWARI, R.; DIXIT, V. Development of a botanical fungicide against blue mould of mandarins. *J. Stored Prod. Res.*, v. 31, n. 2, p. 165-172, 1994.

- FANTINI, A.C. et al. Sustained yield management in tropical forest: a proposal based on the autoecology of species. *Sellowia*, v. 42/44, p. 25-33, 1992.
- FARIAS, M.R.; SIMÕES, C.M.O.; RECH, N.; BOFF, P.R.; STORB, B.H.; ROVARIS, D.A. Espécies vegetais empregadas na produção de fitoterápicos em Santa Catarina. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 12, 1994, Fortaleza. *Resumos...* Fortaleza, 1994. p.125.
- FUNDAÇÃO SOS Mata Atlântica/Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais. *Atlas da evolução dos remanescentes florestais e ecossistemas associados do domínio da Mata Atlântica no período 1985-1990*. 1992.
- FURLAN, M.R. Aspectos agrônômicos em plantas medicinais. In: DI STASI, L.C. (org.). *Plantas Medicinais: arte e ciência. Um guia de estudo interdisciplinar*. São Paulo: UNESP, 1996.
- GILBERT, L.E. Food Web Organization and Conservation of Neotropical Diversity. In: SOULÉ, M.E.; WILCOX, B.A. (ed.). *Conservation biology*. Sunderland: Sinauer, 1980. p.11-34.
- GODOY, R.A.; BAWA, K.S. The economic value and sustainable harvest of plants and animals from the tropical forest: assumptions, hypotheses, and methods. *Economic Botany*, v. 47, n. 3, p. 215-219, 1993.
- GODOY, R.A.; LUBOWSKI, R.; MARKANDAYA, A. A Method for the economic valuation of non-timber tropical forest products. *Economic Botany*, v. 47, n. 3, p.220-233, 1993.
- GÖTSCH, E. *O renascer da agricultura*. Rio de Janeiro: AS-PTA, 1995. 24p.
- GOTTLIEB, O.R.; BORIN, M.R.M.B. Natural products research in Brazil. *Ciência e Cultura*, v. 49, n. 5/6, p. 315-320, 1997.
- GOTTLIEB, O.R.; KAPLAN, M.A.C. Triagem química de essências nativas. In: CONGRESSO NACIONAL SOBRE ESSÊNCIAS NATIVAS, 2, 1982, Campos do Jordão. *Anais...* Campos do Jordão, 1982. P.232-7.
- GOTTLIEB, O.R.; KAPLAN, M.A.C.; BORIN, M.R.M.B. *Biodiversidade: um enfoque químico-farmacológico*. Rio de Janeiro: UFRJ, 1996.
- GUERRA, M.P.; NODARI, R.O.; REIS, M.S.; ORTH, A.J. Biodiversidade, recursos genéticos vegetais e a nova pesquisa agrícola. *Ciência Rural*, v. 28, n. 3, p.21-8, 1998.
- GUIMARÃES, E.M. *Ecologia da polinização, fluxo de pólen e taxa de cruzamento em Bauhinia forficata Linck (Caesalpinaceae)*. Piracicaba: ESALQ, USP, 1994. (Dissertação de mestrado). 114p.
- HARLEY, R.M. Labiadas. 1. *Hyptis*. In: *Flora Ilustrada Catarinense*, fasc. LABI. Itajaí: Herbário Barbosa Rodrigues, 1985. 72p.
- IBAMA/CENARGEN - REUNIÃO TÉCNICA SOBRE RECURSOS GENÉTICOS DE PLANTAS MEDICINAIS E AROMÁTICAS – Estratégias para Conservação e Manejo Sustentável, 1. *Relatório*. Brasília, 2001 (não publicado).
- IKUTA, A.R.Y. Estudos sobre propagação de marcela, *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC., Compositae. In: MING, L.C. (coord.). *Plantas medicinais, aromáticas e condimentares – avanços na pesquisa agrônômica*. Botucatu: UNESP, 1998, v. 1.
- JANSEN, D.H. Herbivores and the number of tree species in tropical forests. *Am. Naturalist*, v. 104, n. 940, p. 501-28, 1970.
- KIEHL, E.J. *Fertilizantes orgânicos*. Piracicaba: Ceres, 1985. 492p.
- KLEIN, R.M. Ecologia da flora e vegetação do Vale do Itajaí. *Sellowia*, v. 32, p. 165-389, 1980.
- MARIOT, A. *Distribuição da diversidade genética e aspectos da fenologia e disper-*

- ção de sementes de pariparoba* (*Piper cernuum* Vell. - *Piperaceae*). Florianópolis, UFSC, 2000. (Dissertação de mestrado do curso de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração "Recursos Genéticos Vegetais", Centro de Ciências Agrárias). 133 p.
- MARIOT, A.; REIS, M.S.; DI STASI, L.C. Fundamentos para o manejo de piperáceas na floresta tropical atlântica - demografia e fenologia reprodutiva. In: DIEGUES, A.C.; VIANA, V.M. *Comunidades tradicionais e manutenção dos recursos naturais da Mata Atlântica*. São Paulo: Provográfica, 1999.
- MARQUES, L.C. Problemas na identificação de espécies vegetais usadas como matéria prima na indústria de fitoterápicos no Paraná. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 12. *Resumos...* Curitiba, 1992.
- MARQUES, L.C. et al.. Avaliação da qualidade de drogas vegetais no Paraná. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 10. *Resumos...* João Pessoa, 1990.
- MARQUES, F.C. Análise da qualidade de sementes e do crescimento inicial de marcela *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. (*Asteraceae*). In: MING, L.C. (coord.). *Plantas medicinais, aromáticas e condimentares - avanços na pesquisa agrônômica*. Botucatu: UNESP, v. 1, 1998.
- MARTINS, E.R.; DE CASTRO, D.M.; CASTELLANI, D.C.; DIAS, J.E. *Plantas medicinais*. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1995. 220p.
- MCALISTER, B.G.; VAN STADEN, J. Effect of artificially induced stress conditions on the growth of medicinal plant *Hypoxis hemerocallidea*. *S. Afr. J. Bot.*, v. 61, n. 2, p. 85-89, 1995.
- MOHAMED, S.; HASSAN, Z.; HAMID, N.A. Antimicrobial activity of some tropical fruits wastes (Guava, Starfruit, Banana, Papaya, Passionfruit, Langsat, Duku, Rambutan and Rambai). *Pertanika J. Trop. Agric. Sci.*, v. 17, n. 3, p. 219-227, 1994.
- MONEGAT, C. *Plantas de cobertura do solo: características e manejo em pequenas propriedades*. Chapecó: Ed. do Autor, 1991. 337p.
- MORESCO, P.M.; DE OLIVEIRA, L.N.P.; LAUS, C.B. *Projeto: Fitoterapia no Município de Curitiba - PR - Produção e beneficiamento de plantas medicinais*. Curitiba: Prefeitura Municipal, 1994. 55p.
- MORESCO, P.M.; DE OLIVEIRA, L.N.P. *Farmácias caseiras: plante saúde*. Curitiba: Prefeitura Municipal de Curitiba, 1995. 60p.
- OLIVEIRA, J.E.Z.; CASALI, V.W.D. Caracterização isozimática de acessos de *Bidens pilosa* L. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, v. 2, n. 1, 1999.
- PARDO, V.A. Estquia de marcela *Achyrocline satureioides* sob diferentes períodos de enraizamento e doses de ácido indolbutírico. In: MING, L.C. (coord.). *Plantas medicinais, aromáticas e condimentares - avanços na pesquisa agrônômica*. Botucatu: UNESP, 1998. v. 1.
- PERECIN, M.B. 2000. *Diversidade genética em populações naturais de espécies de espinheira-santa*, *Maytenus aquifolia* Mart. e *M. ilicifolia* Mart. ex Reiss. (*Celastraceae*). Piracicaba: ESALQ/USP, 2001. Tese (doutoramento). 134p.
- PEREIRA, A.M.S. Micropropagação de *Maytenus aquifolium* Mart. e *Maytenus ilicifolia* Mart. (espinheira-santa). In: MING, L.C. (coord.). *Plantas medicinais, aromáticas e condimentares - avanços na pesquisa agrônômica*. Botucatu: UNESP, 1998. v. 2.
- PETROVICK, P.R.; ORTEGA, G.G.; BASSANI, V.L. From a medicinal plant to a pharmaceutical dosage form. A (still) long way for the Brazilian medicinal plants. *Ciência e Cultura*, v. 49, n. 5/6, p. 364-369, 1997.

- PIÑA-RODRIGUES, F.C.M.; COSTA, L.G.; REIS, A. Estratégias para o estabelecimento de espécies arbóreas e o manejo de florestas tropicais. In: CONGRESSO FLORESTAL BRASILEIRO, 6, 1989, Campos de Jordão. *Anais...*, Campos do Jordão, 1989. p. 676-684.
- PIRES, A.M. Fitoterapia e homeopatia na prefeitura municipal de Ribeirão Preto. In: WORKSHOP DE PLANTAS MEDICINAIS DE BOTUCATU, 2, 1996, Botucatu, *Anais...*, Botucatu, 1996. p. 54-56.
- PRIMAVESI, A. *Manejo ecológico do solo: a agricultura em regiões tropicais*. São Paulo: Nobel, 1979. 549p.
- RAMOS, M.R.C.; PINTO, J.E.P.B.; FURTINI NETO, A.E.; DAVIDE, A.C. Influência da aplicação de nitrogênio, fósforo e potássio no crescimento e composição mineral de mudas de pata-de-vaca (*Bauhinia forficata* Link). *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, v. 3, n. 1, 2000.
- REIS, A. *Manejo e conservação das florestas catarinenses*. Florianópolis: UFSC, 1993. Tese para concurso de Professor Titular. 137p.
- REIS, A.; REIS, M.S.; FANTINI, A.C. Sustentabilidade das florestas tropicais: uma utopia? *Ciência e Ambiente*, v. 9, jul-dez, p. 29-38, 1994.
- REIS, M.S. Manejo sustentado de plantas medicinais em ecossistemas tropicais. In: DI STASI, L.C. (Org.) *Plantas Medicinais: arte e ciência. Um guia de estudo interdisciplinar*. São Paulo: UNESP, 1996.
- REIS, M.S.; FANTINI, A.C.; NODARI, R.O.; REIS, A.; GUERRA, M.P.; MANTOVANI, A. Management and conservation of natural populations in Atlantic Rain forest: The case study of palm heart (*Euterpe edulis* Martius). *Biotropica*, v. 32(4b), p.894-902. 2000.
- REIS, M.S.; GUERRA, M.P.; NODARI, R.O. Manejo e conservação de espécies da mata atlântica. In: SIMPÓSIO DE RECURSOS GENÉTICOS PARA A AMÉRICA LATINA E CARIBE, 3. *Anais...* Londrina: IAPAR/CENARGEN, 2001.
- REIS, M.S.; MARIOT, A.; DI STASI, L.C. Manejo de plantas de uso medicinal na Floresta Tropical Atlântica. In: DIEGUES, A.; VIANA, V. *Comunidades tradicionais e manejo dos recursos naturais da mata atlântica*. São Paulo: NAPAUB/LASTRP, p.95-102, 2000.
- REITZ, R.; KLEIN, R.M.; REIS, A. *Projeto madeira de Santa Catarina*. Itajaí: Herbário Barbosa Rodrigues, 1978. 320p.
- RIBEIRO, R.J. Plano de negócios apresentado ao FUNBIO: Projeto de Exploração Sustentável de Plantas Medicinais e Aromáticas Nativas da Mata Atlântica em Comunidades Quilombolas do Vale do Ribeira (SP). Registro, Plano de Negócios apresentado ao Fundo Brasileiro para a Biodiversidade (FUNBIO). 120 p., 2001.
- ROSA, S.G.T. *Caracterização das sementes de Maytenus ilicifolia Mart. ex Reiss, espinheira-santa e viabilidade de sua propagação sexuada*. Porto Alegre: UFRGS, 1998. Tese. 106 p.
- SANTOS, E.M.G. *Ecologia da polinização, fluxo de pólen e taxa de cruzamento em Bauhinia forficata Link (Caesalpinaceae)*. Piracicaba, ESALQ/USP, 1994. Tese em Genética e Melhoramento (doutorado). 114 p.
- SACRAMENTO, H.T. Fitoterapia no SUS: uma opção terapêutica no município de Vitória. In: WORKSHOP DE PLANTAS MEDICINAIS DE BOTUCATU, 2, 1996, *Anais...*, Botucatu, 1996. p. 44-48.
- SCHEFFER, M.C. É possível fazer manejo de plantas medicinais? In: WORKSHOP

- DE PLANTAS MEDICINAIS DE BOTUCATU, 2, 1996, Botucatu. *Anais...*, Botucatu, 1996. p. 12-16.
- SCHEFFER, M. C. *Sistema de cruzamento e variação genética entre populações e progênes de espinheira-santa*. Curitiba: Universidade Federal do Paraná. 2001. Tese em Engenharia Florestal (doutorado). 120 p.
- SEARS, C. The easy way to sell drugs. *New Scientist*, Nov. 1995.
- SHELDON, J.W.; BALICK, M.J.; LAIRD, S.A. Medicinal plants: can utilization and conservation coexist? In: *Advances in economic botany*. New York: The New York Botanical Garden, 1997. v. 12, 104p.
- SIMÕES, C.M.O.; MENTZ, L.A.; SCHENKEL, E.P.; IRGANG, B.E.; STEHMANN, J.R. *Plantas da medicina popular no Rio Grande do Sul*. Porto Alegre: Ed. Universidade/UFRGS, 1986. 176p.
- SMITH, L.B. Boragináceas. *Flora Ilustrada Catarinense*, fasc. BORA. Itajaí: Herbário Barbosa Rodrigues, 1970. 85p.
- SMITH, L.B.; GUIMARÃES, E.F.; PEREIRA, J.F.; NORMAN, E.M. Loganiáceas. *Flora Ilustrada Catarinense*, fasc. LOGA. Itajaí: Herbário Barbosa Rodrigues, 1976. 77p.
- STEENBOCK, W. *Cultivo de plantas medicinais*. Guarapuava: Prefeitura Municipal de Guarapuava, 1999.
- STEENBOCK, W.; RADOMSKI, M.I.; SOARES, A.O.; PUCHALSKI, A.; GOMES, G.S.; REIS, M.S. Avaliação de características fenotípicas para a determinação indireta de rendimento foliar em espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia*). *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, 2002 (no prelo).
- STEIN, U.; KLINGAUF, F. Insecticidal effect of plant extracts from tropical and sub-tropical species: traditional methods are good as long as they are effective. *J. Applied Entomol.*, v. 110, n. 2, p. 160-166, 1990.
- TERBORGH, J. Maintenance of diversity in tropical forests. *Biotropica*, v. 24, n. 2b, p.283-292, 1992.

8. SUGESTÕES PARA LEITURA

- CORRÊA JÚNIOR, C.; MING, L.C.; SCHEFFER, M.C. *Cultivo de plantas medicinais, condimentares e aromáticas*. 2.ed. Jaboticabal: FUNEP, 1994. 162p.
- DI STASI, L.C. (org.). *Plantas medicinais: arte e ciência. Um guia de estudo interdisciplinar*. São Paulo: UNESP. 1996. 230p.

DIVERSIDADE BIOLÓGICA E SISTEMAS DE CLASSIFICAÇÃO

AUTORES

Gilsane Lino von Poser
Lilian Auler Mentz

SUMÁRIO DO CAPÍTULO

1. Introdução
2. Os principais táxons
3. O metabolismo vegetal
4. Quimiotaxonomia vegetal – um breve histórico
5. Situação atual e aplicações da quimiotaxonomia
6. Limitações da aplicação de dados químicos em sistemática
7. Referências bibliográficas
8. Sugestões para leitura

1. INTRODUÇÃO

O homem primitivo, ao procurar plantas para seu sustento, foi descobrindo espécies com ação tóxica ou medicinal, dando início a uma sistematização empírica dos seres vivos, de acordo com o uso que podia fazer deles. Indícios do uso de plantas medicinais e tóxicas foram encontrados nas mais antigas civilizações.

No entanto, a grande diversidade de formas vegetais tornou necessária uma sistematização, muitas vezes artificial, com base em critérios de mais fácil utilização, agrupando aquelas formas com maior semelhança externa e interna em níveis hierárquicos, dependentes do grau de uniformidade de suas características. A hierarquização e a caracterização dos diferentes grupos de vegetais originaram os sistemas de classificação. Os sistemas mais antigos baseavam-se em características morfológicas externas, agrupando as espécies em divisões naturais, tais como algas, briófitas, pteridófitas, gimnospermas e angiospermas. Os sistemas artificiais, dos quais o mais conhecido foi o de Linnaeus, baseavam-se apenas em algumas características morfológicas, utilizando como regra a teoria da imutabilidade das espécies. Com os estudos e publicações de Wallace e Darwin, tal teoria foi abandonada, surgindo os sistemas filogenéticos, baseados na teoria da evolução (Bezerra e Fernandes, 1989). Os sistemas filogenéticos refletem a história evolutiva dos táxons, arranjando-os de acordo com as afinidades existentes entre eles. Desses sistemas, o que alcançou

maior divulgação na primeira metade do século XX, foi o de Engler, em várias edições modificadas. É necessário ressaltar que os sistemas de classificação são sempre questionados, sofrendo alterações a cada nova descoberta. Atualmente, os sistemas usuais, elaborados com base em dados morfológicos, fitoquímicos, micromorfológicos, isto é, ultra-estruturais, entre outros (como por exemplo, para as angiospermas, os de Cronquist (1981 e 1988), R.Dahlgren (1980), G.Dahlgren (1989) e Takhtajan (1997)), estão sendo alvo de novas propostas de modificações, baseadas principalmente no conhecimento da biologia molecular, cujos dados são obtidos através do sequenciamento de porções do genoma de cada táxon. A biologia molecular é considerada uma boa ferramenta para a formulação e o entendimento de hipóteses e teorias evolutivas, proporcionando consistência aos sistemas ultimamente propostos. Esta nova metodologia de trabalho não exclui todas as outras ferramentas clássicas utilizadas na caracterização dos táxons, como os caracteres morfológicos comparativos, externos e internos, os embriológicos, os paleontológicos, entre outros (Daly et al., 2001).

Diferentes sistemas de classificação dos seres vivos ou, mais especificamente, dos organismos relacionados a plantas, são encontrados na literatura. Muitos organismos tradicionalmente agrupados com as plantas, como as bactérias e os fungos e, mais recentemente, as algas, estão sendo aliçados dos novos sistemas. Uma organização didática é encontrada em Bold et al. (1987), agrupando os organismos vivos, que nos sistemas antigos eram considerados como pertencentes ao reino vegetal, em dois super-reinos e três reinos distintos (tabela 1). O sistema apresentado por Bold et al. (1987) não é universalmente aceito (Raven et al., 1996; Curtis e Barnes, 2001; Margulis e Schwartz, 2001), mas o ordenamento utilizado é bastante claro e permite uma visualização dos grandes grupos de seres vivos, excluindo-se aqueles classificados entre animais ou relacionados a eles.

O super-reino Prokaryonta, com um único reino, Monera, caracteriza-se por não apresentar carioteca (membrana nuclear) e membrana nas mitocôndrias. Incluem-se no reino Monera as bactérias e as algas azuis. O super-reino Eukaryonta está representado por organismos com carioteca, subdividido em dois reinos, o reino Myceteae (Fungi), cujos representantes são aclorofilados, e o reino Phyta (Plantae), cujos representantes apresentam clorofila em cloroplastídeos. Estudos recentes levaram a modificações consideráveis na classificação de fungos e plantas. Assim, o reino vegetal (Phyta ou Plantae), é formado por 19 divisões de plantas vivas (tabela 1) e 6 divisões de plantas que já desapareceram, das quais existem apenas registros fósseis (Rhyniophyta, Zosterophyllophyta, Trimerophytophyta, Progymnospermophyta, Pteridospermophyta, Cycadeoidophyta), considerando-se a divisão Chlorophyta como a mais primitiva e a divisão Magnoliophyta como a mais evoluída.

Os sistemas de classificação de Magnoliophyta (Angiospermas) mais aceitos atualmente pela comunidade científica ocidental são os de Cronquist

TABELA 1
Classificação dos organismos relacionados a plantas (Bold et al., 1987)

Super-reino	Reino	Divisão	Nomenclatura usual
<i>Prokaryonta</i>	<i>Monera</i>	<i>Bacteria</i> <i>Cyanophyta</i>	Bactérias Algas azuis
<i>Eukaryonta</i>	<i>Mycetae (Fungi)</i>	<i>Gymnomycota</i> <i>Mastigomycota</i> <i>Amastigomycota</i> [<i>Lichen Fungi</i>] *	Fungos Líquens
		<i>Phyta (Plantae)</i>	
		<i>Chlorophyta</i> <i>Charophyta</i> <i>Euglenophyta</i> <i>Phaeophyta</i> <i>Chrysophyta</i> <i>Pyrrophyta</i> <i>Rhodophyta</i>	Algas
		<i>Hepatophyta</i> <i>Anthocerotophyta</i> <i>Bryophyta</i>	Brófitas
		<i>Microphyllrophyta</i> <i>Arthrophyta</i> <i>Pteridophyta</i> <i>Psilotophyta</i>	Pteridófitas
		<i>Cycadophyta</i> <i>Ginkgophyta</i> <i>Coniferophyta</i> <i>Gnetophyta</i>	Gimnospermas
		<i>Magnoliophyta</i> = <i>Anthophyta</i> = <i>Angiospermae</i>	Angiospermas

* Divisão especial, formada por uma associação de fungos e algas.

(1988), R.Dahlgren (1980), G.Dahlgren (1989), Takhtajan (1997) e Judd et al. (1999), embora a maioria dos livros didáticos brasileiros ainda estejam baseados no Sistema desenvolvido por Engler, cuja última edição, póstuma, foi apresentada por Melchior e colaboradores em 1964 (Melchior, 1964). Uma visão comparativa dos sistemas utilizados até 1973 pode ser encontrada em Becker (1973), que compara os sistemas propostos por Cronquist em 1968, Takhtajan em 1966 e 1969, Thorne em 1968, Engler em 1964, Hutchinson em 1959 e 1969 e Bentham e Hooker em 1862-1883.

Em cada uma dessas divisões, os grupos morfológicamente distintos foram, por sua vez, agrupados em classes, ordens e famílias. As famílias são unidades taxonômicas que compreendem plantas que apresentam um determinado número de características em comum. São formadas por gêneros, e estes, por uma ou mais espécies. Cada espécie vegetal possui centenas de características morfológicas externas e internas, além de características em-

biológicas, químicas e genéticas, utilizadas para classificá-la nos diferentes táxons. As características morfológicas externas possibilitam, via de regra, a classificação de uma espécie vegetal em qualquer nível hierárquico. No entanto, algumas vezes são necessárias observações complementares da organização interna, estudos embriológicos e/ou análise dos metabólitos secundários, para estabelecer fidedignamente tal classificação.

2. OS PRINCIPAIS TÁXONS

Plantas ou partes de plantas, utilizadas como fonte de matéria-prima para a produção de medicamentos são reconhecidas através de várias características, específicas para cada uma delas: a forma, organização e a fase gametofítica, via de regra, são os aspectos fundamentais utilizados na identificação de uma espécie (táxon).

No reino Phyta (Plantae), as algas abrangem cerca de 22.000 espécies (Raven et al., 1996). Em geral, possuem corpos relativamente simples, compostos de uma ou mais células, carecendo de tecidos vasculares. Vivem, em regra, em ambientes aquáticos, tendo importante função na manutenção do equilíbrio ecológico das águas. Algumas têm interesse econômico e farmacêutico, como *Fucus vesiculosus* (ver capítulo "Polissacarídeos"). Em diversos sistemas propostos, as algas encontram-se agrupadas com os fungos e líquens em um reino separado das demais plantas, denominado Protista (Curtis e Barnes, 2001) ou Protoctista (Margulis e Schwartz, 2001).

Os líquens formam um grupo artificial, pois são formados por uma associação entre fungos e algas. São fonte abundante de compostos fenólicos (depsídeos, depsidonas e xantonas), muitos com marcante atividade biológica.

As briófitas (tabela 1) são conhecidas popularmente por musgos. No entanto, não são restritas a eles, porque compreendem também as hepáticas e os antóceros, sendo representadas, portanto, por três divisões. Raven et al. (1996) mencionam a existência de 15.600 espécies. Contudo, informações mais recentes citam aproximadamente 21.600 espécies (Curtis e Barnes, 2001). São plantas de pequeno porte (de até 20 cm), que não apresentam tecidos vasculares; vivem preferencialmente em ambientes muito úmidos e não muito iluminados, existindo exceções, como de alguns musgos que ocorrem sobre pedras, em desertos secos. Caracterizam-se por apresentar gerações bem definidas e alternadas. A geração mais duradoura e autotrófica corresponde ao gametófito, que é responsável pela produção dos gametas. Estes, por sua vez, após o processo de fecundação, originam esporófitos, de vida temporária, que vivem parasiticamente sobre o gametófito, sendo responsáveis pela produção de esporos, que ao germinarem, originam novos gametófitos. As briófitas são importantes bioindicadoras de poluição ambiental (Lisboa, 1993).

As pteridófitas, como as samambaias, as avencas e as escadinhas-do-céu,

compreendem quatro divisões com representantes vivos (Bold et al., 1987) (tabela 1). A delimitação das divisões não é uniforme nos diversos sistemas, encontrando-se nomenclatura e circunscrição diferenciada, conforme o ponto de vista dos autores dos mesmos. Estão representadas por 12.000 (Raven et al., 1996) a 13.000 espécies (Curtis e Barnes, 2001). Originaram-se há cerca de 400 milhões de anos (Raven et al., 1996). São plantas vasculares, isto é, têm vasos especializados para a condução de líquidos por toda a planta, fato que proporcionou a ocupação de quase todos os ambientes terrestres, além de possibilitar um crescimento de até vários metros de altura. Caracterizam-se por apresentar uma alternância de gerações, em que, ao contrário das briófitas, a fase esporófitica é dominante, produzindo esporos, que, ao germinarem, originam gametófitos. Estes, em sua maioria, são autotróficos, têm vida livre e curta, porém, dependente da água, produzindo gametas, que, ao se unirem, originarão um novo esporófito. O esporófito, portanto, corresponde às plantas desse grupo que são encontradas na natureza. As pteridófitas ocorrem em muitos ambientes, podendo ser epífitas ou terrestres, formando, frequentemente, o extrato inferior ou médio de uma floresta.

As gimnospermas compreendem quatro divisões de plantas vivas (tabela 1), agrupando, no total, cerca de 761 espécies (Raven et al., 1996). A divisão mais primitiva agrupa as plantas popularmente chamadas de cicadáceas (Cycadophyta). A maioria das espécies conhecidas de gimnospermas pertencem à divisão das coníferas (Coniferophyta). As Gnetophyta estão representadas por apenas três gêneros (*Ephedra*, *Gnetum* e *Welwitschia*) e a divisão Ginkgoophyta tem uma única espécie, conhecida popularmente como ginko (*Ginkgo biloba* L.). A palavra gimnosperma quer dizer semente nua (*gymnos*, nu + *sperma*, semente), característica constante em todo o grupo. São plantas, em regra, lenhosas, frequentemente arbóreas, com alternância de gerações sobre o esporófito, com a formação, pela primeira vez na história evolutiva das plantas, de grãos de pólen, que correspondem a microgametófitos. Na polinização, o vento atua como vetor (anemofilia) e a fecundação ocorre dentro de um megagametófito, o qual, por sua vez, está no interior de uma estrutura presa ao esporófito, que, após a união dos gametas, originará a semente. Essa, ao germinar, originará novamente um esporófito, que corresponde às gimnospermas encontradas na natureza. Algumas gimnospermas fazem parte de farmacopéias, como *Juniperus* e *Pinus* (Coniferophyta), *Ginkgo* (Ginkgoophyta) e *Ephedra* (Gnetophyta). De *Ginkgo biloba* L. são obtidos extratos das folhas, de emprego farmacêutico em produtos indicados em alguns distúrbios circulatórios. De espécies de *Ephedra* é obtida a efedrina, importante como fármaco adrenérgico. Atualmente, o gênero mais estudado é *Taxus* (Coniferophyta), do qual, de algumas espécies, é obtido o paclitaxel, terpeno com atividade citostática.

Os primeiros restos fósseis que podem ser atribuídos às gimnospermas,

datam de cerca de 360 milhões de anos, enquanto que os atribuídos às angiospermas, datam de cerca de 127 milhões de anos (Raven et al., 1996). As famílias de angiospermas existentes hoje têm várias idades geológicas, existindo algumas plantas que são chamadas de fósseis vivos, como a gimnosperma *Ginkgo biloba* L., da família Ginkgoaceae e a angiosperma *Drimys brasiliensis* Miers, da família Winteraceae.

As Magnoliophyta ou Angiospermae, também conhecidas por plantas com flores, agrupam-se, de acordo com o Sistema de Cronquist (1981, 1988), em duas subdivisões: Magnoliopsida (Dicotyledoneae), com espécies que se caracterizam por apresentar embriões com dois cotilédones e Liliopsida (Monocotyledoneae), cujos representantes se caracterizam por apresentar embriões com apenas um cotilédone. Além dessa diferença existem outras: nas espécies de Magnoliopsida, as folhas têm nervação reticulada, penínérvea, curvinérvea ou palminérvea, raramente com uma bainha na base e as flores apresentam 2, 4 ou 5 peças em seus verticilos protetores (isto é, no cálice e corola). Nas Liliopsida, as folhas têm nervação paralelinérvea, apresentando, em regra, bainha e as flores têm 3 peças nos verticilos protetores, ou um número múltiplo de 3. Recentemente, as investigações com base na biologia molecular modificaram a concepção da organização das angiospermas, acarretando mudanças em todos os sistemas propostos de classificação (APG, 1998; Judd et al., 1999; Savolainen et al., 2000). O APG (*Angiosperm Phylogeny Group*) é um grupo de pesquisadores responsáveis por propor, através das recentes descobertas, um novo sistema, baseado nas relações filogenéticas e mais próximo da verdadeira história evolutiva das angiospermas.

O ciclo reprodutivo, à semelhança das gimnospermas, se dá sobre o esporófito, com uma alternância de gerações. Difere daquelas pela presença de estruturas que protegem os megagametófitos, além dos tegumentos da semente. A palavra angiosperma quer dizer semente dentro de uma urna (*angios*, urna + *sperma*, semente), ou seja, existe a formação de fruto, o qual envolve e protege a(s) semente(s). As plantas encontradas na natureza correspondem aos esporófitos, os quais, em uma fase de sua vida, produzem as flores. É no interior delas que se dá a fase gametofítica. Nos estames, especificamente nas tecas das anteras, ocorre a formação do microgametófito, que é também chamado de grão de pólen. Este apresenta em seu interior dois núcleos. Após a polinização, muito especializada, necessitando de vetores, tais como insetos, pássaros, morcegos ou vento, ocorre a formação do tubo polínico, pelo extravasamento do conteúdo do grão de pólen para dentro do estigma e estilete do gineceu de uma flor, em busca do megagametófito, incluso no gineceu. Durante este trajeto é que, em regra, ocorre a divisão de um dos núcleos que estavam dentro do grão de pólen, sendo que um deles vai corresponder ao gameta chamado

de masculino. Este chega até o gameta chamado de feminino, dentro do megagametófito, ocorrendo a fecundação. Todo este processo se dá em uma estrutura da flor, chamada de gineceu (*giné* = mulher).

Em todo o globo estima-se em cerca de 380.000 o número de espécies de plantas e entre 300.000 e 320.000 o número de espécies de Magnoliophyta (Prance et al., 2000). Essas últimas são a maioria das plantas encontradas na natureza, incluindo todas aquelas que produzem flores e frutos. São classificadas de acordo com diversos dados morfo-anatômicos e outros, como por exemplo, presença de determinados metabólitos secundários e, mais recentemente, em dados moleculares. Muitas delas apresentam um mosaico de características que permite colocá-las em várias posições dentro de um sistema, de acordo com o ponto de vista de cada autor (ver exemplo no capítulo "Nomenclatura botânica, classificação e identificação de plantas medicinais"). Os sistemas de Cronquist (1988) e Takhtajan (1997) valorizam a apocarpia (carpelos livres entre si), a sincarpia (carpelos soldados entre si) ou a condição monocarpelar (gineceu formado por uma folha carpelar), a coripetalia, também chamada de dialipetalia (pétalas livres entre si) ou a simpetalia, também chamada de gamopetalia (pétalas soldadas entre si), a presença de idoblastos (células diferentes das demais em um tecido, pela forma, tamanho, função ou conteúdo), os rudimentos seminais (óvulos) bi ou unitegumentados, o tipo de formação dos gametas (micro e megasporogênese), o tipo de formação do endosperma, o pólen bi ou trinucleado, entre outros caracteres. Já Dahlgren (1980) dá grande importância à presença de metabólitos secundários, como será abordado a seguir.

3. O METABOLISMO VEGETAL

Os produtos químicos produzidos pelos vegetais podem ser divididos em dois grandes grupos. Os primeiros, essenciais a todos os seres vivos, são os metabólitos primários ou macromoléculas, como são também denominados. Nesse grupo estão incluídos os lipídeos, protídeos e glicídeos, com funções vitais bem definidas. Os produtos do metabolismo primário, através de rotas biossintéticas diversas e frequentemente desconhecidas, originam, às custas de energia, o segundo grupo de compostos químicos - os metabólitos secundários ou micromoléculas - que geralmente apresentam estrutura complexa, baixo peso molecular, marcantes atividades biológicas e, diferentemente daqueles do metabolismo primário, são encontrados em concentrações relativamente baixas e em determinados grupos de plantas. No passado, alguns autores lançaram a hipótese de que os metabólitos secundários nada mais eram do que subprodutos do metabolismo primário. Entretanto, o fato do vegetal utilizar rotas biossintéticas elaboradas, com elevados gastos de energia, conduz à hipótese mais

aceita atualmente de que os vegetais consomem essa energia para sintetizar compostos necessários para a sua sobrevivência e preservação. Esses produtos atuam primeiramente na defesa do vegetal, agindo como dissuasórios alimentares e como toxinas. Os melhores exemplos de dissuasórios alimentares são os taninos, freqüentes em frutos verdes. Esses produtos adstringentes são responsáveis pela preservação do fruto até o pleno desenvolvimento da semente, quando, então, desaparecem.

Substâncias de outras classes tais como saponinas, cumarinas, limonóides, quassinóides, lactonas sesquiterpênicas e iridóides, devido ao sabor amargo, que freqüentemente apresentam, também podem atuar como desestimulantes de herbívoros.

Muitas toxinas, como por exemplo, os alcalóides, têm sabor amargo e desagradável fazendo com que, em algumas situações, os herbívoros reconheçam e evitem as plantas que as contém. Por outro lado, alguns metabólitos secundários atuam de maneira oposta, atraindo insetos, pássaros, morcegos e até mesmo ratos, responsáveis pela polinização de muitas plantas. Nesse grupo incluem-se os pigmentos (flavonóides, antocianinas e betalaínas) e os óleos voláteis (monoterpenos, sesquiterpenos e fenilpropanóides) (Harborne, 1993a, 1993b; Harborne e Williams, 1995). Informações complementares a esse respeito podem ser encontradas nos capítulos correspondentes a estes grupos de substâncias do metabolismo secundário.

A sobrevivência de uma determinada espécie, entretanto, não está assegurada unicamente pelo fato dela se defender de predadores e de garantir sua reprodução. Ocorre também uma interação planta/planta, chamada de alelopatia, na qual um vegetal compete com outro, provavelmente para assegurar o fornecimento de água, luz e nutrientes. Surpreendentemente, esses efeitos alelopáticos podem ocorrer entre indivíduos da mesma espécie, especialmente quando a falta de água e/ou nutrientes limita o crescimento. Esse fenômeno é chamado de autotoxicidade ou de autopatia. Nesses processos, vários metabólitos secundários estão envolvidos, especialmente mono e sesquiterpenos (von Poser et al., 1996).

Além dos produtos citados anteriormente, nos vegetais encontram-se também outros metabólitos secundários tais como poliacetilenos, quinonas e aminoácidos não protéicos. A real função de muitos deles ainda não é conhecida, mas o estudo desses compostos químicos de origem vegetal tem permitido a compreensão de muitos fenômenos da natureza.

Se o estudo da função destes produtos nos vegetais e da forma como certos animais utilizam os vegetais no tratamento de suas doenças deu origem a novas áreas da ciência como a ecologia bioquímica e a zoofarmacognosia, a observação de que a ocorrência dos mesmos é restrita a determinados grupos de plantas abriu um amplo campo de estudos - a quimiotaxonomia. Na figura 1 está representada, esquematicamente, a diferenciação dos metabólitos vegetais primários e secundários.

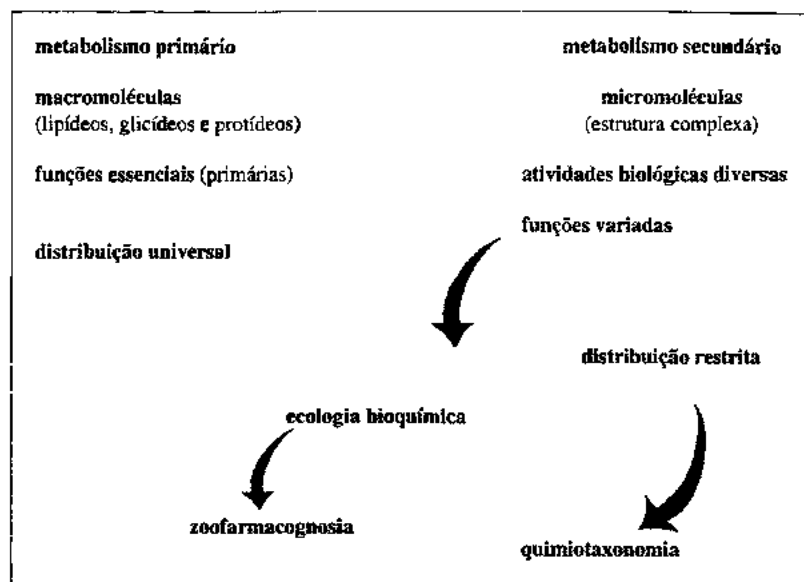


Figura 1. Diferenciação de metabolismo vegetal primário e secundário

4. QUIMIOTAXONOMIA VEGETAL – UM BREVE HISTÓRICO

A quimiotaxonomia teve seus fundamentos na observação de propriedades alimentares, medicinais, olfatórias, etc. apresentadas pelas plantas; aqueles vegetais que apresentavam propriedades similares eram classificados juntos.

Os primeiros trabalhos publicados datam do final do século XVII. Grew (1673) relacionou certos grupos de plantas com os respectivos usos terapêuticos. Petiver (1699) e Camerarius (1699) relacionaram morfologia e características organolépticas (odor e sabor) com as propriedades medicinais. No início do século XIX, De Candolle (1816) introduziu outra questão: ele observou que *plantas diferentes nascidas em solos idênticos continham produtos diferentes enquanto que plantas análogas nascidas em solos completamente diferentes formavam produtos análogos*. Isto significa que esse autor considerou a composição química como um caráter taxonômico. De Candolle percebeu, também, que alguns insetos podiam detectar diferenças entre grupos de plantas e, em 1832, verificou a interação entre plantas superiores (alelopatia), propondo as bases da moderna ecologia bioquímica.

A seguir, muitos autores contribuíram para o desenvolvimento desses conceitos. Entre eles, destacam-se Helen Abbott (1886, 1887), que previu a importância da química na taxonomia; Eykman (1888), que publicou sobre a

ocorrência de alcalóides em determinadas famílias; Van Romburgh (1890), com trabalhos sobre a ocorrência de substâncias como salicilato de metila e HCN em vegetais; Greshoff (1909), com pesquisas sobre taninos, alcalóides, heterosídeos cianogenéticos e saponinas, e McNair (1917-1945), com numerosos trabalhos associando a química à taxonomia, estudando especialmente ácidos graxos. A partir de 1935, a atenção voltou-se para a ocorrência de alcalóides com os trabalhos de Manske. Todos os trabalhos citados nesse breve histórico são referenciados por Gibbs (1963).

Em tempos mais atuais, o conhecimento químico sobre as plantas foi sistematizado, surgindo trabalhos completos como *Chemotaxonomie der Pflanzen* (Hegnauer, 1962-1994) e os trabalhos de R. Dahlgren (1975, 1980), Dahlgren et al., (1985) e G. Dahlgren (1989), que relacionam a química com vários outros caracteres. No Brasil, o grupo de pesquisadores liderados por Otto R. Gottlieb destaca-se devido às numerosas publicações sobre o tema, abordando, especialmente, aspectos evolutivos dos vegetais (Gottlieb, 1982a, 1982b, 1987; Ferreira e Gottlieb, 1982; Figueiredo et al., 1995; Gottlieb et al., 1995, 1996).

5. SITUAÇÃO ATUAL E APLICAÇÕES DA QUIMIOTAXONOMIA

O interesse na utilização da química (quimiotaxonomia ou quimiosistemática) e da bioquímica (sistemática bioquímica ou taxonomia molecular) (figura 2) em sistemática vegetal tem aumentado rapidamente nos últimos anos, principalmente, devido ao desenvolvimento de métodos analíticos atri-

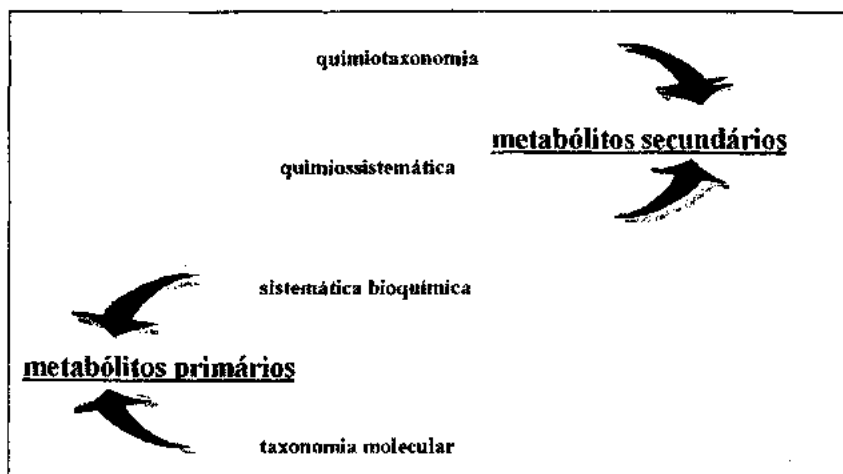


Figura 2. Terminologia empregada para métodos taxonômicos que utilizam metabólitos primários e secundários.

morados que possibilitaram a análise de um grande número de plantas com maior rapidez e relativa facilidade. Os processos são selecionados de acordo com a natureza dos compostos em estudo. Para compostos voláteis, por exemplo, a cromatografia gasosa associada à espectrometria de massas tem fornecido resultados excelentes tanto quantitativos quanto qualitativos.

Embora trabalhos de taxonomia molecular, utilizando especialmente sequenciamento de DNA de cloroplastos, estejam se tornando cada vez mais numerosos (Judd et al., 1999; Savolainen et al., 2000; Olmstead et al., 2000, 2001), os produtos do metabolismo secundário continuam sendo utilizados em estudos visando ao estabelecimento de relações filogenéticas. A presença de certos metabólitos secundários indica claramente que as espécies que os sintetizam possuem uma rota biossintética específica e um gene ou conjunto de genes específicos controlando essa rota, estando os produtos presentes em alta ou baixa concentração.

Assim, a presença de certos compostos em determinados grupos de plantas é de grande importância nos estudos sobre evolução. Os processos evolutivos dependem da combinação de fatores internos e externos tais como mutação, recombinação gênica e seleção. Durante a evolução pode ocorrer que grupos não relacionados apresentem similaridades morfológicas. Isso é chamado de “convergência” ou “paralelismo”. Por outro lado, pode ocorrer “divergência”, em que plantas intimamente relacionadas originam descendentes diferenciados. Tais fenômenos podem causar consideráveis dificuldades nos estudos taxonômicos. Nesses casos, o conhecimento da química desses grupos pode ser de grande importância. Segundo alguns autores, a existência de um padrão comum no metabolismo secundário pode prover evidências mais corretas de parentesco do que similaridades morfológicas, que podem tanto ser devidas a ancestrais comuns quanto à evolução convergente (Swain, 1963; Gershenzon e Mabry, 1983; Hegnauer, 1986).

Entre os vários sistemas de classificação dos vegetais já propostos, raros levam em consideração as características químicas. Cronquist (1981) cita a ocorrência de metabólitos secundários de cada ordem e família. Entretanto, esse autor não atribui grande relevância a tais dados. Por outro lado, Dahlgren (1975; 1980; 1989), conferindo grande importância aos metabólitos secundários, utilizou o padrão de distribuição de vários produtos (alcalóides provenientes de diferentes rotas biossintéticas, iridóides, poliacetilenos, etc.) para elaborar e, posteriormente, modificar seus sistemas de classificação dos vegetais.

6. LIMITAÇÕES DA APLICAÇÃO DE DADOS QUÍMICOS EM SISTEMÁTICA

Na utilização de dados químicos em taxonomia, vários fatores devem ser levados em consideração. O primeiro deles é que, embora cada vez mais

aumente o número de trabalhos de pesquisa, apenas uma pequena proporção das plantas foi investigada quimicamente e, conseqüentemente, as informações disponíveis nem sempre são suficientes. Em segundo lugar, existe uma tendência em buscar determinados produtos nos táxons em que há maior probabilidade de eles serem encontrados. Exemplificando: um pesquisador que estuda alcalóides indólicos monoterpênicos trabalhará com espécies das famílias Apocynaceae, Rubiaceae ou Loganiaceae, nas quais os mesmos são abundantes. A ocorrência fora dessas famílias, que teria grande importância em taxonomia e em estudos sobre evolução, dificilmente seria investigada.

Outro problema consiste na decisão sobre a relevância da presença de determinados produtos. Existe uma íntima relação entre complexidade biossintética de uma substância e sua significância taxonômica. Muitos produtos apresentam estrutura complexa, mas são formados por processos biossintéticos relativamente simples. Tais substâncias são menos interessantes, do ponto de vista taxonômico, que aquelas de estrutura mais simples provenientes de uma rota biossintética complexa. Atualmente, os produtos do metabolismo secundário considerados mais apropriados aos estudos quimiotaxonômicos são alcalóides, aminoácidos não protéicos, poliacetilenos, iridóides e compostos fenólicos, especialmente flavonóides e taninos hidrolisáveis. Todos estes compostos são de ocorrência restrita, sendo amplamente utilizados como marcadores quimiotaxonômicos (Gottlieb, 1982a; Gershenzon e Mabry, 1983; Jensen, 1991, 1992).

Diferentes plantas podem conter substâncias pertencentes a diferentes classes químicas, mas que se originam de um mesmo precursor. Tais plantas, provavelmente, contêm sistemas enzimáticos similares e os compostos formados, embora diferentes, podem indicar uma relação filogenética entre elas.

Algumas modificações, provocadas por mutação, podem causar grandes diferenças na produção de metabólitos secundários devido, por exemplo, ao bloqueio de alguma rota biossintética. Esse fenômeno, chamado de "divergência química", é análogo à divergência morfológica e também causa grandes dificuldades nos estudos quimiotaxonômicos. Muitas vezes observa-se, também, que plantas absolutamente não relacionadas produzem as mesmas substâncias. Esse fato, na grande maioria das vezes, indica que tais produtos não devem ser usados como marcadores quimiotaxonômicos.

Nos estudos quimiotaxonômicos deve-se levar em conta, também, que a composição química de um vegetal varia de órgão para órgão. É necessária a investigação da planta como um todo para inferir sobre o parentesco de determinado grupo; a análise de apenas um órgão pode levar a conclusões taxonômicas errôneas.

Além disso, podem ocorrer variações individuais. Certas substâncias podem ocorrer em quantidades não detectáveis em função de condições edáficas e climáticas e, como os compostos apresentam uma função ecológica,

verificam-se variações de acordo com o período vegetativo da planta. Modificações no metabolismo devido a infecções também devem ser mencionadas. Nesses casos, o vegetal pode produzir fitoalexinas, objeto de crescente interesse em fitopatologia (Pedras et al., 2002).

Outros problemas relacionados aos estudos quimiotaxonômicos são o custo referente aos processos de isolamento e identificação, a dificuldade em isolar produtos presentes em diminutas concentrações e, em alguns casos, a necessidade de grandes quantidades de material vegetal, muitas vezes impraticável em função do porte do mesmo.

Apesar dessas limitações, pode-se concluir que a quimiotaxonomia fornece dados de grande validade para a reestruturação de sistemas de classificação. Além disso, é importante salientar a importância da quimiotaxonomia na área farmacêutica. Esse conhecimento, aliado à etnofarmacologia, tem permitido a descoberta de novos fármacos de origem natural, que têm sido utilizados sem alterações estruturais ou como modelo para a síntese de novas substâncias ativas.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- APG – Angiosperm Phylogeny Group. *Ann. Missouri Bot. Gard.* v.84, p.1-49, 1998. <http://www.mobot.org/MOBOT/Research/APweb/>.
- BECKER, K.M. A comparison of Angiosperm classification systems. *Taxon*, v. 22, n.1, p. 19-50, 1973.
- BEZERRA, P.; FERNANDES, A. *Fundamentos de taxonomia vegetal*. Fortaleza: UFC, Brasília: PROED, 1984. 100p.
- BOLD, H.C.; ALEXOPOULOS, C.J.; DELEVORYAS, T. *Morphology of Plants and Fungi*. 4 ed. New York: Harper & Row, 1987. 912p.
- CRONQUIST, A. *An integrated system of classification of flowering plants*. New York: Columbia Univ., 1981.
- CRONQUIST, A. *The evolution and classification of flowering plants*. New York: The New York Botanical Garden, 1988. 555p.
- CURTIS, H.; BARNES, N.S. *Biologia*. 6.ed. Buenos Aires: Editora Médica Panamericana, 2001. 1491p.
- DAHLGREN, G. The last Dahlgrenogram, a system of classification of the dicotyledons. In: TAN, K. (ed). *Plant taxonomy, phyto geography and related subjects*. Edinburg: Edinburg Univ., 1989. p.249-260.
- DAHLGREN, R. A system of classification of the angiosperms to be used to demonstrate the distribution of characters. *Botaniska Notiser*, v. 128, p. 181-197, 1975.
- DAHLGREN, R.M.T. A revised system of classification of the angiosperms. *Bot. J. Linnean Soc.*, v. 80, p. 91-124, 1980.
- DAHLGREN, R.M.T.; CLIFFORD, M.T.; YEO, P.F. *The Families of the monocotyledons*. Berlin: Springer, 1985.
- DALY, D.; CAMERON, K.M.; STEVENSON, D.W. Plant systematics in the age of genomics. *Plant Physiology*, v.127, p.1328-1333. 2001
- FERREIRA, Z.S.; GOTTLIEB, O.R. Polyacetylenes as systematic markers in dicotyledons. *Biochem. System. Ecol.*, v. 10, p. 155-160, 1982.

- FIGUEIREDO, M.R.; KAPLAN, M.A.C.; GOTTLIEB, O.R. Diterpenes, taxonomic markers? *Plant System. Evol.*, v. 195, p. 149-158, 1995.
- GERSHENZON, J.; MABRY, T.J. Secondary metabolites and higher classification of angiosperms. *Nordic J. Botany*, v. 3, p. 5-34, 1983.
- GIBBS, R.D. History of Chemical Taxonomy. In: SWAIN, T. (ed.). *Chemical plant taxonomy*. London: Academic, 1963. p.41-88.
- GOTTLIEB, O. R. Evolução química vegetal. *Ciência e Cultura*, v. 39, n. 4, p. 357-370, 1987.
- GOTTLIEB, O.R. *Micromolecular evolution, systematics and ecology*. Berlin: Springer, 1982a.
- GOTTLIEB, O.R. Ethnopharmacology versus chemosystematics in search for biologically active principles in plants. *J. Ethnopharmacol.*, v. 6, p. 227-238, 1982b.
- GOTTLIEB, O.R.; BORIN, M.R. DE M.B.; BOSISIO, B.M. Chemosystematic clues for the choice of medicinal and food plants in Amazonia. *Biotropica*, v. 27, n. 3, p. 401-406, 1995.
- GOTTLIEB, O.R.; KAPLAN, M.A.C.; BORIN, M.R. DE M.B. *Biodiversidade, um enfoque químico-biológico*. Rio de Janeiro: UFRJ, 1996.
- HARBORNE, J.B. Advances in chemical Ecology. *Nat. Prod. Rep.*, v. 10, n. 4, p. 327-348, 1993a.
- HARBORNE, J.B. *The flavonoids in research since 1986*. London: Chapman & Hall, 1993b.
- HARBORNE, J.B.; WILLIAMS, C.A. Anthocyanins and other flavonoids. *Nat. Prod. Rep.*, v. 12, n. 6, p. 639-657, 1995.
- HEGNAUER, R. *Chemotaxonomie der Pflanzen*. Basel: Birkhäuser, 1962-1994.
- HEGNAUER, R. Phytochemistry and plant taxonomy - an essay on the chemotaxonomy of higher plants. *Phytochemistry*, v. 25, n. 7, p. 1519-1535, 1986.
- JENSEN, S.R. Plant iridoids, their biosynthesis and distribution in angiosperms. In: HARBORNE, J.B.; TOMAS-BARBERAN, F.A. (ed.). *Ecological chemistry and biochemistry of plant terpenoids*. Oxford: Clarendon, 1991. p. 133-158.
- JENSEN, S.R. Systematic implications of the distribution of iridoids and other chemical compounds in the Loganiaceae and other families of the Asteridae. *Ann. Missouri Bot. Gard.*, v. 79, p. 284-302, 1992.
- JUDD, W.S.; CAMPBELL, C.S.; KELLOG, E.A.; STEVENS, P.F. *Plant Systematics: a phylogenetic approach*. Sunderland, Massachusetts: Sinauer, 1999. 464 p.
- LISBOA, R.C.L. Musgos e Hepáticas. *Ciência Hoje*, v.16, n. 91, p.14-19, 1993.
- MARGULIS, L.; SCHWARTZ, K.V. *Cinco reinos: um guia ilustrado dos filós da vida na Terra*. 3.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. 497p.
- MELCHIOR, H.A. *Engler's Syllabus der Pflanzenfamilien*. Berlin: Bornträger. v. 2., 1964. 666p.
- OLMSTEAD, R.G.; DEPAMPHILIS, C.W.; WOLFE, A.D.; YOUNG, N.D.; ELI-SONS, W.J.; REEVES, P.A. Disintegration of the Scrophulariaceae. *Amer. J. Bot.*, v.88, n.2, p.348-361, 2001.
- OLMSTEAD, R.G.; KIM, K.J.; JANSEN, R.K.; WOGSTAFF, S.J. The phylogeny of the Asteridae sensu lato based on chloroplast *ndhF* gene sequences. *Mol. Phylog. Evol.*, v.16, n.1, p.96-112, 2000.
- PEDRAS, M.S.C.; NYCHOLAT, C.M.; MONTAUT, S.; XU, Y.; KHAN, A.Q. Chemical defenses of crucifers: elicitation and metabolism of phytoalexins and indole-3-acetonitrile in brown mustard and turnip. *Phytochemistry*, v.59, n.6, p.611-625, 2002.

- RAVEN, P.H.; EVERT, R.F.; EICHHORN, S.E. *Biologia vegetal*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. 728p.
- SAVOLAINEN, V.; FAY, M.F.; ALBACH, D.C.; BACKLUND, A.; van der BANK, M.; CAMERON, K.M.; JOHNSON, S.A.; LLEDÓ, M.D.; PINTAUD, J.-C.; POWELL, M.; SHEAHAN, M.C.; SOLTIS, D.E.; SOLTIS, P.S.; WESTON, P.; WHITTEN, W.M.; WURDACK, K.J.; CHASE, M.W. Phylogeny of the eudicots: a nearly complete familial analysis based on rbcL gene sequences. *Kew Bulletin*, v. 55, n. 2, p. 257-309, 2000.
- SWAIN, T. *Chemical plant taxonomy*. London: Academic, 1963.
- TAKHTAJAN, A.L. *Diversity and classification of flowering plants*. New York: Columbia University, 1997. 643p.
- VON POSER, G.L.; MENUT, C.; TOFFOLI, M.E.; VERIN, P.; SOBRAL, M.; BESIÉRI, J.M.; LAMATY, G.; HENRIQUES, A.T. Essential oil composition and allelopathic effect of the Brazilian Lamiaceae *Hesperozygis ringens* (Benth.) Epling and *Hesperozygis rhododon* Epling. *J. Agric. Food Chem.*, v. 44, p. 1829-1832, 1996.

8. SUGESTÕES PARA LEITURA

- CRONQUIST, A. *An integrated system of classification of flowering plants*. New York: Columbia University, 1981. 1262p.
- GOTTLIEB, O.R. *Micromolecular evolution, systematics and ecology*. Berlin: Springer, 1982.
- GOTTLIEB, O.R.; KAPLAN, M.A.C.; BORIN, M.R. DE M.B. *Biodiversidade, um enfoque químico-biológico*. Rio de Janeiro: UFRJ, 1996.
- MARGULIS, L.; SCHWARTZ, K.V. *Cinco reinos: um guia ilustrado dos filos da vida na Terra*. 3.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. 497p.
- RADFORD, A.E. *Fundamentals of plants systematics*. New York: Harper & Row, 1986. 498p.
- RAVEN, P.H.; EVERT, R.F.; EICHHORN, S.E. *Biologia vegetal*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. 728p.
- TAKHTAJAN, A.L. *Evolutionary trends in flowering plants*. New York: Columbia University, 1991. 241p.

QUIMIOSSISTEMÁTICA COMO FERRAMENTA NA BUSCA DE SUBSTÂNCIAS ATIVAS

AUTORES

Otto Richard Gottlieb
Maria Renata da M. B. Borin

SUMÁRIO DO CAPÍTULO

1. Introdução
2. Resultados
3. Discussão
4. Conclusão
5. Novas perspectivas – 2001
6. *Post scriptum* – 2002
7. Referências bibliográficas
8. Sugestões para leitura

1. INTRODUÇÃO

Na abertura de uma mesa-redonda sobre *Tratamentos tradicionais em medicina moderna*, Bannerman (1982) declarou enfaticamente:

Parece paradoxal que, em tempos em que a medicina científica moderna avança com passos tão gigantes e goza de prestígio inigualável, tratamentos tradicionais continuem despertando muito interesse tanto em países desenvolvidos quanto em países em desenvolvimento.

Embora essa declaração possa ser considerada razoável até os dias atuais, na verdade soa como um truismo: não apenas fármacos novos mas muitos outros materiais úteis foram revelados à civilização ocidental por culturas primitivas ao redor do mundo. No entanto, pelo menos para nós, na América do Sul, a possibilidade de obter de populações indígenas informações adicionais sobre plantas úteis parece ser muito remota. A maior parte dos costumes existentes já foi investigada e a aculturação de povos primitivos é, no presente, muito rápida. Além disso, apesar dos sucessos quase que miraculosos e dos aspectos históricos fascinantes da medicina tradicional, populações indígenas conseguiram descobrir somente uma pequena proporção de todos os organismos úteis. O número de plantas contendo substâncias potencialmente aplicáveis com propriedades biológicas, farmacológicas ou terapêuticas, que não foram aproveitadas por essas populações, é astronômico. Finalmente, a abordagem por tentativa

e erro para a descoberta de novos produtos naturais bioativos está condenada, devido à lentidão do método. Em vista do pequeno número de especialistas e da enorme velocidade de extinção das espécies, é duvidoso que mesmo apenas 5% dos organismos mundiais possam ser adicionados aos nossos inventários antes que os remanescentes 80% tenham se extinguido.

Assim, pode-se formular duas perguntas fundamentais. Primeiro, as práticas indígenas podem ser racionalizadas por argumentação científica? Em outras palavras, as tendências observadas no uso de plantas são consistentes com uma teoria abrangente baseada em evolução, sistemática e ecologia micromoleculares? Caso as práticas tradicionais possam ser avaliadas por conceitos sistemáticos modernos, extrapolações seriam possíveis. Assim, previsões concernentes à distribuição natural de produtos vegetais, dotados com as propriedades desejadas, poderiam ser investigadas rapidamente, livres do esforço tedioso necessário para a desmitificação de crenças populares.

Apesar de intimamente conectada com uma resposta válida à primeira questão, é assim mesmo de importância considerar também a segunda questão: é necessário – de fato – que a abordagem do curandeiro tradicional continue um fator decisivo na aquisição de informação válida para o início de atividades de pesquisas, como novamente postulado por Bannerman (1982)?

A seguir, será explicado por que as respostas às duas questões são respectivamente “sim” e “não”.

2. RESULTADOS

2.1. Levantamentos etnobotânicos regionais

A correlação de práticas regionais e teorias científicas foi investigada através de dois casos. No primeiro, as substâncias químicas isoladas de angiospermas brasileiras e responsáveis pelo uso dessas plantas como venenos para flechas, alucinógenos, venenos para peixe, drogas, estimulantes, especiarias, perfumes e pigmentos foram correlacionadas com a posição sistemática das espécies nas quais ocorrem.

A maioria das substâncias é produzida por Magnoliidae *sensu* Cronquist (1988) primitivas e por Asteridae avançadas. Até o presente, Hamamelidae, Dilleniidae e Rosidae, sendo as duas últimas subclasses largamente distribuídas no Brasil, forneceram um número relativamente pequeno de substâncias úteis. Esse fato pode ser racionalizado pela presença em suas espécies de polifenóis do tipo gálico (Gottlieb et al., 1995b).

No segundo caso, a frequência de uso de plantas como agentes terapêuticos e como alimentos em relação ao total de plantas utilizadas para qualquer finalidade, foi avaliada para três sociedades indígenas da Amazônia (Gottlieb et al., 1995a). A análise dos dados revelou, como tendência comum, o

uso preferencial de espécies mais avançadas e herbáceas (centralizadas na subclasse Asteridae) como medicinais e de espécies mais primitivas e lenhosas (centralizadas na ordem Magnoliales, subclasse Magnoliidae) como alimentícias. Na interseção dessas tendências, as espécies do complexo Hamamelidae, Dilleniidae, Rosidae são utilizadas quase que na mesma proporção como medicinais e alimentícias. Daí, em contraste com espécies medicinais, as alimentícias são frequentemente grupos vegetais contendo polifenóis.

As virtudes medicinais de plantas contendo polifenóis, principalmente elagitaninos, foram frequentemente ignoradas por curandeiros tradicionais. Isso se deve ao fato de essas substâncias combinarem baixa toxicidade com alta sofisticação de ação (Okuda et al., 1989). De fato, a adstringência promovida por polifenóis indica a ausência de metabólitos altamente bioativos e, portanto, poderia estimular o uso adicional dessas plantas como alimentos. Nutracêuticos (componentes bioativos de alimentos) foram ingeridos durante centenas de anos sem efeitos maléficos, um conceito básico que providenciava um indício poderoso para a seleção proposital de plantas.

2.2. Levantamentos etnobotânicos mundiais

Para demonstrar a importância da etnofarmacologia comparativa, foi feito levantamento dos volumes 1 a 25 (1979 a 1989) do *Journal of Ethnopharmacology* selecionando todas as espécies botanicamente identificadas para as quais tivesse sido atribuído algum uso claramente definido em medicina tradicional, exceto em rituais, caça ou pesca (Gottlieb e Stefanello, 1991). Foram selecionados aproximadamente 7.500 itens, quase todos (98%) referentes a angiospermas e, a sua grande maioria (90%), a dicotiledôneas. As espécies citadas foram classificadas em suas famílias botânicas e seus usos agrupados em 17 categorias, de acordo com a classificação internacional de doenças (World Health Organization, 1977). Dentre as 60 famílias de dicotiledôneas identificadas por esse levantamento, as dez famílias com os maiores números de citações foram selecionadas para a construção de perfis etnofarmacológicos. Tais perfis envolveram a contagem do número de citações de diferentes espécies para cada uma das 17 categorias de doenças. A análise desses perfis focaliza algumas condições, por exemplo, neoplasmas (categoria 2), doenças do sangue (categoria 4), anomalias congênitas e perinatais (categorias 14 e 15) para as quais não foram citados produtos vegetais, pelo menos para as famílias selecionadas. Além disso, as 10 famílias puderam ser separadas em dois grupos. Do primeiro grupo, Rosaceae, Caesalpiniaceae, Fabaceae (subclasse Rosidae) e Ericaceae (subclasse Dilleniidae) provêm predominantemente drogas usadas para o tratamento de doenças infecciosas e parasitárias (categoria 1), assim como doenças do sistema digestivo e genitourinário (categorias 9 e 10). Significativamente, com relação aos vegetais da

família Rosaceae, mais da metade das citações foram atribuídas a doenças da categoria 1, principalmente à diarreia, e mais de 70% das citações atribuídas a doenças da categoria 10 referem-se à amenorréia e à menstruação irregular.

Considerando as composições químicas dessas famílias, a sua bioatividade pode ser atribuída à presença maciça de fenóis, talvez flavonóides e seguramente polifenóis (taninos). Essa última categoria de substâncias é conhecida por possuir atividade antisséptica e por agir no sistema digestivo. Acredita-se que seja útil no tratamento de diarreias, desordens estomacais, feridas, queimaduras e inflamações (Haslam et al., 1989).

O segundo grupo de famílias, Ranunculaceae (subclasse Magnoliidae), Rubiaceae, Apocynaceae, Scrophulariaceae, Lamiaceae, Solanaceae (subclasse Asteridae) produz predominantemente drogas usadas no tratamento de condições mal definidas, por exemplo, dor e febre (categoria 16). Vegetais da família Ranunculaceae são citados com razoável frequência em conexão com doenças do tecido conjuntivo (categoria 13). A bioatividade especializada de produtos vegetais derivados de espécies dessas famílias é devida à presença de quantidades relativamente diminutas de compostos específicos (alcalóides, lignóides, terpenóides, policetídeos).

2.3. Levantamentos biogeográficos

Tendo reconhecido a espantosa eficiência de práticas tradicionais como indícios para a descoberta de fármacos e outros produtos naturais úteis, vejamos o que acontece ao se substituir empirismo tribal por ciência moderna.

A busca sem premissas de produtos de origem natural específicos ou novos requer outra vez a consideração conjunta de morfologia e metabolismo vegetais, integrados em uma rede (*network*) biogeográfica. No entanto, o registro completo da composição química de todas as espécies das áreas em estudo, é evidentemente uma façanha impossível. O artifício escolhido para suprir essa deficiência, consiste na dedução de perfis metabólicos, extrapolações que atualmente já podem ser formuladas com segurança razoável.

O perfil metabólico (PM) de uma área para uma categoria micromolecular escolhida (X) é determinado pela expressão:

$$PM(X) = \frac{a \frac{NO(X)}{sp(A)} + b \frac{NO(X)}{sp(B)} + c \frac{NO(X)}{sp(C)} + \dots}{a + b + c + \dots}$$

onde A, B, C, ... representam famílias individuais e a, b, c, ... o número respectivo de espécies inventariadas. NO, o número de ocorrências de micromoléculas da categoria X de cada família, é inferido pela soma do número de substâncias citadas na literatura para todas as espécies particulares da família. A

divisão de NO pelo número total de espécies (sp) da respectiva família (A) leva aos perfis micromoleculares de X por espécie $[NO(X)/sp(A)]$.

A determinação de PM de uma área requer a seleção de categorias metabólicas. Os critérios químicos gerais mais significativos referem-se à substituição evolutiva de substâncias aromáticas derivadas de chiquimato (CH) por substâncias alifáticas derivadas de acetato/ mevalonato (AC) (figura 1). Neo-

$$PM(CH) = PM(NLG) + PM(LGN) + PM(PRO)$$

$$PM(AC) = PM(EST) + PM(POL) + PM(PIR)$$

$$CH\% = \frac{PM(CH) \times 100}{PM(CH) + PM(AC)}$$

$$AC\% = \frac{PM(AC) \times 100}{PM(CH) + PM(AC)}$$

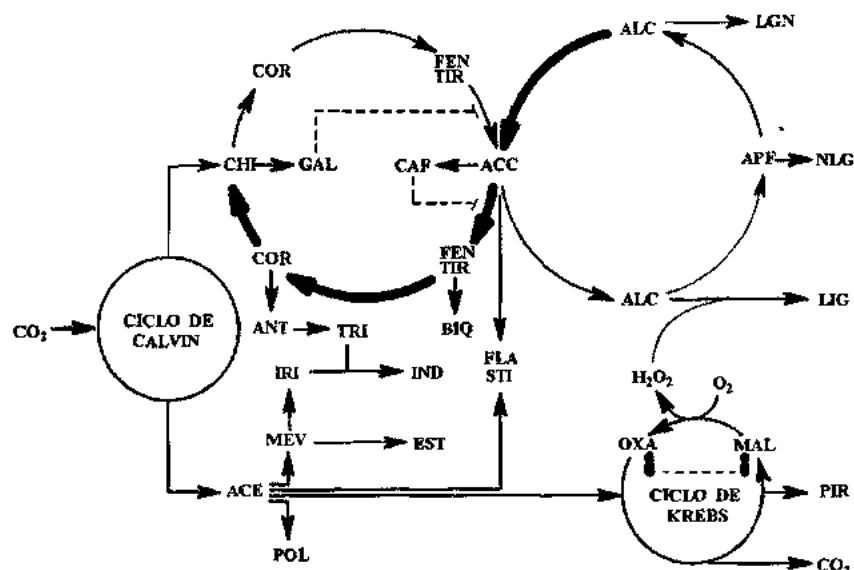


Figura 1. Esquema representando processos biossintéticos (setas finas) e evolutivos (setas grossas) responsáveis pela formação de categorias selecionadas do metabolismo especial em angiospermas. ACC ácidos cinâmicos, ACE ácido acético, ALC álcoois cinâmilícos, ANT alcalóides derivados de antranilato, APF alil- e propenilfenóis, BIQ alcalóides benzilisoquinolínicos, CAF ácido caféico, CHI ácido chiquímico, COR ácido corísmico, EST esteróides, FEN fenilalanina, FLA flavonóides, GAL ácido gálico, IND alcalóides indólicos, IRI iridóides, LGN lignanas, LIG ligninas, MAL ácido malônico, MEV ácido mevalônico, NLG neolignanas, OXA ácido oxálico, PIR alcalóides pirrolizidínicos, POL poliacetilenos, STI estilbenóides, TIR tirosina, TRI triptofano.

lignananas (NLG), lignanas (LGN) e proantocianidinas (PRO) foram selecionadas para representar CH. Esteróides (EST), poliacetilenos (POL) e alcalóides pirrolizidínicos (PIR) foram selecionados para representar AC.

3. DISCUSSÃO

3.1. Levantamentos etnobotânicos regionais

Há duas razões que justificam a ação peculiar de galotaninos. Primeiro, como ativadores de PAL (Boudet et al., 1971), o ácido gálico estimula a produção de ácidos cinâmicos, precursores potenciais de flavonóides, estilbenóides, benzofenonas, etc. Consequentemente, espécies ricas em galotaninos são, de maneira geral, pobres em produtos fitoquímicos com importância como marcadores em sistemática vegetal. Em segundo lugar, como poderosos sequestradores de radicais (Hatano et al., 1989), como antioxidante, portanto, o ácido gálico inibe a biossíntese de muitos metabólitos secundários.

De fato, a maior parte dos produtos fitoquímicos úteis em quimiosistemática são produtos de oxidação formados por transferência de elétrons (levando a acoplamento fenólico) em angiospermas mais primitivas, e por transferência de oxigênio (levando a oxigenação de alifáticos) nos grupos mais evoluídos. A oxidação evolutiva progressiva de metabólitos secundários em categorias biossintéticas particulares poderia constituir uma manifestação do corte evolutivo gradual da via do chiquimato (canalização evolutiva), ou seja, a tendência em direção à eliminação de compostos aromáticos, inclusive polifenóis e ligninas (figura 1).

O bloco magnolialeano, ao qual se assinala uma posição primitiva em angiospermas (Kubitzki e Gottlieb, 1984), adquiriu derivados de galato por desdobramento em Hamamelidae, Dilleniidae e Rosidae. Assim como os demais derivados da via do ácido chiquímico, o ácido gálico é sujeito à eliminação evolutiva (Gottlieb et al., 1993). Como postulado pela teoria redox (Gottlieb e Kaplan, 1993), isso leva, no bloco rosifloreano, ao reaparecimento gradual das linhagens químicas oxidativas (Zocher et al., 1998). Em correspondência com esse fato, a toxicidade dos alcalóides desses grupos vegetais aumenta com o nível evolutivo de suas origens vegetais. Evidentemente, isso não significa que plantas contendo taninos hidrossolúveis são privadas de bioatividade. Ericaceae (subclasse Dilleniidae), Cornaceae e Krameriaceae (subclasse Rosidae) mostram ação moluscicida precisamente devido à presença de taninos gálicos e elágicos (Schaufelberger e Hostettmann, 1983). Além disso, taninos foram por muito tempo conhecidos por complexar eficazmente certas partículas virais de plantas e de animais, reduzindo a sua infecciosidade (Unander et al., 1995).

Polifenóis ocorrem predominantemente no complexo Hamamelidae,

Dilleniidae e Rosidae, tendo sido muitas vezes descritos como desestimulantes alimentares (Oates et al., 1977). Essas substâncias são altamente adstringentes quando ingeridas e desagradáveis ao paladar em níveis que são acen-tuadamente tóxicos para humanos. A bioatividade de taninos é descrita como sendo causada pela interação com enzimas digestivas de mamíferos, tais como a tripsina (Griffith, 1986). Em baixas concentrações, taninos estimulam a hi-drólise de proteínas promovida por tripsina (Mole e Waterman, 1985). No entanto, em glândulas salivares de gatos e ratos, taninos estimulam a produ-ção de glicoproteínas ricas em prolina que podem detoxificar os taninos exis-tentes por complexação (Johns, 1990). Proteínas ricas em prolina também ocorrem em secreções da glândula parótida humana, permitindo a utilização de alimentos vegetais contendo taninos. Finalmente, humanos podem sele-cionar dietas contendo quantidades suficientes de taninos para manter a glân-dula parótida em estágio induzido (Butler et al., 1986). Portanto, humanos mostram-se adaptados a certas quantidades de taninos, apresentando até uma *certa apreciação por adstringência* (Johns, 1990).

Essa conclusão poderia parecer completamente consistente com os re-sultados etnobotânicos relatados, a menos que seja lembrado que proprieda-des análogas têm sido atribuídas a alcalóides e outros constituintes amargos de plantas. Apesar de sua ação como repelentes em geral, a apreciação por amargor pode ser desenvolvida (Harborne, 1988). Além disso, enquanto muitos órgãos vegetais podem ser adstringentes ou amargos, esses não necessa-riamente incluem as partes comestíveis.

As observações revelam que galotaninos são marcadores químicos ex-celentes (Kaplan e Gottlieb, 1990), fornecendo uma pista do potencial da planta como fonte de substâncias de interesse.

3.2. Levantamentos etnobotânicos mundiais

Perfis etnofarmacológicos de famílias vegetais podem ser analisados por duas abordagens (Gottlieb e Stefanello, 1991). Com respeito à primeira, análi-ses desses perfis sugerem que os principais usos de espécies vegetais, indica-dos pelas frequências máximas de citações, possuem um fundamento quimio-taxonômico sólido. Em oposição, os usos ocasionais são representados por flu-tuações fracas de frequência de citações. Interessante e útil como esse resulta-do possa parecer, era de se esperar. A Botânica foi primitivamente praticada por médicos interessados em plantas medicinais e, assim, morfologia vegetal e pro-priedades medicinais eram implicitamente correlacionadas e, juntas, constituí-ram a força propulsora para o desenvolvimento da classificação vegetal.

Na segunda abordagem, as análises entre perfis através da correlação de distâncias etnofarmacológicas e morfológicas (evolutivas) para famílias ve-getais sugerem que etnofarmacologia comparativa possui também uma base filogenética (quimiosistemática). Esse resultado indica que a disciplina é

dotada de um poder de previsão considerável, validando extrapolações e, assim, aumentando a probabilidade de sucesso na seleção de amostras vegetais para a busca de produtos naturais bioativos. Evidentemente, a abordagem mundial ainda não elimina a influência dos xamãs, mas, avaliando a sua influência do ponto de vista botânico, reduz crenças inválidas a simples ruídos de fundo em correlações etnofarmacológicas.

3.3. Levantamentos biogeográficos

As constituições químicas de vegetações de florestas e savanas são diferentes tanto do ponto de vista qualitativo quanto do quantitativo. Assim, para a vegetação da Amazônia, a proporção de micromoléculas derivadas da via do chiquimato *versus* da via do acetato/mevalonato fica em torno de 70:30. Para a savana, essa proporção é de 25:75 (Gottlieb e Borin, 1994).

Considerando que macro- e micromoléculas vegetais sejam mecanisticamente inter-relacionadas (Gottlieb et al., 1995b), é possível esperar que a variação química seja menor em áreas de florestas do que em áreas de campinas. A formação de ligninas é um processo que necessita de oxigênio e a restrição de sua síntese, a principal tendência evolutiva em angiospermas, deve levar a estresse oxidativo, a causa universal de biodiversificação.

Sem dúvida, no entanto, o resultado mais dramático refere-se à interrupção de todos os gradientes micromoleculares ao longo da grande faixa entre 12 e 14° de latitude sul, precisamente na interface floresta/cerrado. Claramente, uma turbulência química deve ter lugar em tais ecotonos bióticos (regiões de tensão ecológica). A localização preferencial de grupos de plantas profundamente diversificados e diferenciados em ecotonos e não nos vastos ecossistemas adjacentes relativamente mais homogêneos, foi demonstrada para o caso da família Rubiaceae (Gottlieb e Borin, 1996).

Assim, a Amazônia e restantes ecossistemas neotropicais sustentam uma rede integrada (*network*) de famílias de plantas floríferas. A comunicação dentro dessa rede envolve os ecotonos. O estudo da criatividade dessas fronteiras naturais é de importância em vista de sua analogia com os corredores entre refúgios conservados pelo homem, base da concepção moderna de áreas de preservação.

4. CONCLUSÃO

Existe ampla justificativa para a esperança de que a consideração conjunta do tripé da sistemática: morfologia, metabolismo e ecogeografia, caso seja expresso por uma metodologia adequada, providenciará muito mais do que somente *informação válida para o início de atividades de pesquisa* na descoberta de produtos naturais bioativos.

De fato, o procedimento quimiosistemático é de aplicabilidade geral. Não existe razão pela qual, além de angiospermas, qualquer grupo de organismos vivos não possa ser susceptível a uma análise orientada cientificamente. Em contraste, populações primitivas são fortemente limitadas pelo número de espécies existentes em seu *habitat*.

Além disso, informações obtidas por exploração de culturas primitivas talvez continuem, por mais algum tempo, rendendo algumas substâncias derivadas de plantas e animais. Porém a velocidade crescente do aparecimento de novas doenças, cada vez mais adaptadas aos ambientes mundiais existentes, ameaça a humanidade e suas colheitas. Assim, sobrevivência talvez venha a significar o desenvolvimento de novos antídotos em ritmo comparável. Essa meta e o progresso geral da nossa civilização tecnológica, permanentemente em busca de novos materiais, exigem uma visão abrangente da quimiodiversidade da natureza.

A química combinatória talvez seja uma alternativa que incorpore uma promessa mais imediata. Porém não se deve esquecer que a introdução maciça de produtos químicos sintéticos dos mais variados no ambiente deve agravar a poluição ou, mesmo pior, talvez proporcione a adaptação de microorganismos e insetos, potenciais vetores de doenças, que ficariam mais devastadores e difíceis de controlar do que antes. Além disso, a produção de substâncias bioativas, por qualquer metodologia sintética, provavelmente será ultrapassada no próximo século, quando é previsto que a biotecnologia leve até às redes neurais de comunicação baseadas em DNA a molécula básica da vida. A triagem da natureza em busca de pequenas moléculas orgânicas úteis, biodegradáveis, se encontra agora ao alcance do potencial científico atual. Esses progressos, quando apoiados por extrapolações de padrões naturais existentes, abrirão vistas para o passado e para o futuro, descortinando mecanismos evolutivos. Afinal, como declarado enfaticamente por Ehrlich (1993), *nada é mais importante para o bem estar do homem hoje do que compreender como funciona a natureza*.

5. NOVAS PERSPECTIVAS – 2001

*No próximo milênio,
os países que tiverem mais florestas e culturas primitivas preservadas
serão beneficiadas na pesquisa científica e na alimentação.*
(Villas Bôas, 1998)

Hoje, ao deixarmos o século XX e iniciarmos um novo milênio, poderíamos relembrar esse prognóstico do grande indigenista e perguntar se ele ainda é verdadeiro. Acreditamos que sim, embora não possamos deixar de reconhecer o grande paradoxo que existe embutido nessa declaração. Como

é possível conservar florestas e culturas primitivas numa época tão avançada tecnologicamente?

Embora esse paradoxo atinja praticamente todas as áreas do conhecimento, ele torna-se mais crítico em estudos envolvendo biodiversidade, produtos naturais e plantas medicinais. Na verdade, as discussões atuais sobre plantas medicinais continuam sendo praticamente as mesmas desde muitos anos. Hoje, basicamente, existem duas correntes de pensamento: uma que defende que todas as respostas serão fornecidas pelo conhecimento tradicional, isto é, pelo conhecimento acumulado e transmitido por gerações; e outra que defende que o avanço tecnológico, como a existência de técnicas mais poderosas de extração de substâncias naturais e bioensaios, irá sobrepor qualquer indicação tradicional.

Acreditamos que o problema resida na falta de conhecimento científico baseado na compreensão dos mecanismos que regulam a produção, o acúmulo e a expressão de substâncias bioativas. Não devemos esquecer que todas as funções biológicas das plantas devem-se ao seu arsenal químico, o qual está estreitamente conectado às flutuações fisiológicas e ambientais. Na verdade, tantos são os fatores envolvidos, que tornam extremamente difícil a tarefa de fazer quaisquer prognósticos a respeito da variabilidade metabólica. Atualmente, essa situação é agravada pela rapidez com que o ambiente vem sofrendo modificações naturais e/ou artificiais.

Somente uma base científica é capaz de integrar as duas visões parciais, informação popular e tecnológica, permitindo que descrições etnobotânicas possam ter validade preditiva. Esse objetivo, no entanto, apresenta dois grandes desafios novos:

1. integrar os conhecimentos etnobotânico e científico na linguagem químico-biológica vegetal buscando tendências e padrões;
2. determinar os mecanismos químicos responsáveis por bioatividade.

Esses desafios foram superados por nosso grupo através da determinação de padrões evolutivos envolvendo informações etnobotânicas, morfológicas e metabólicas (Gottlieb et al., 2001; Gottlieb e Borin, 2002). Conseguimos confrontar informação funcional, baseada em conhecimento tradicional (via número de espécies de dicotiledôneas úteis), com informação estrutural, baseada em diversificação micromolecular (via número de ocorrências de metabólitos em dicotiledôneas). O desenvolvimento de modelos qualitativos - via dahlgrenogramas (Dahlgren, 1980) - e quantitativos - via Índices de Sporne (Sporne, 1980) - permitiu a integração das diferentes bases de dados em uma mesma moldura evolutiva.

Surpreendentemente, qualificações etnobotânicas apresentaram padrões sistemáticos e evolutivos sobreponíveis às qualificações fitoquímicas, baseadas em reguladores do metabolismo, galatos e cafeatos (Gottlieb e Borin, 2000). Comparações entre ambos os modelos de informação sugerem que fei-

ções “espectrais” de galatos e cafeatos coincidem respectivamente com espécies utilizadas tradicionalmente como alimento e fármacos (Gottlieb et al. 2001). Assim, conseguimos racionalizar a natureza complementar de espécies alimentícias e medicinais através de oscilações entre o par de reguladores metabólicos. Análises desses indicadores de bioatividade permitirão avanços significativos na compreensão dos mecanismos reguladores da flutuação entre ação nutricional e medicinal. Caso essa proposta mecanística de complementação de propriedades possa ser comprovada daremos um importante passo para a compreensão da linguagem químico-biológica.

Na realidade, esses resultados promissores demonstram, uma vez mais, que fenômenos naturais são resultantes da ação de forças opostas, o que comprova a universalidade do princípio dos antagonismos (Gottlieb e Borin, 1998, 1999). Esses conceitos podem fornecer pistas para o esclarecimento dos mecanismos responsáveis pela biodiversidade através da conectividade entre informação molecular (metabólica) e informação biológica (organísmica).

Acreditamos que a ciência, neste novo milênio, terá que estar preparada para fornecer respostas a questões ligadas aos mecanismos do funcionamento da natureza. “À medida que o nosso século se aproxima do seu término, e que nos aproximamos de um novo milênio, a sobrevivência da humanidade dependerá de nossa alfabetização ecológica, da nossa capacidade para entender esses princípios da ecologia e viver em conformidade com eles” (Capra, 1996). Embora esse assunto seja de importância primordial para todos os seres humanos, ele assume uma posição de destaque em países como o Brasil, onde é tão evidente o paradoxo entre conservação e tecnologia, o que torna as decisões a serem tomadas muito mais cruciais. Assim mesmo, a tentativa obstinada do nosso grupo para compreender os mecanismos de funcionamento da natureza, através de uma linguagem químico-biológica apropriada, já foi considerada por alguns “apenas um sonho”, enquanto outros consideram que os objetivos da fitoquímica em países em desenvolvimento deveriam ser restritos à busca de princípios bioativos (Gottlieb e Borin, 1994b). Opiniões desse tipo tornam qualquer tentativa de interferência racional no meio ambiente meros exercícios filosóficos e demagógicos, uma vez que é impossível atuar racionalmente em um sistema quando se desconhece o mecanismo de seu funcionamento!

*No final, conservaremos somente o que amamos,
amaremos somente o que compreendemos,
compreenderemos somente o que nos é ensinado.*
(Baba Dioum)

6. POST SCRIPTUM - 2002

"A biologia genocêntrica parte do princípio de que a compreensão dos genes e de suas propriedades são suficientes para explicar as propriedades dos organismos. Apesar do poder da genética molecular em revelar as bases hereditárias dos organismos, e com isso conseguir explicar um impressionante número de dados biológicos, ela deixa sem explicação aspectos gerais da evolução, incluindo a origem das espécies. Isto leva ao reconhecimento de que organismos não são apenas sujeitos a mutações genéticas aleatórias, mas precisam ser compreendidos como sistemas dinâmicos com ritmos diferentes que caracterizam cada sistema vivo" (Goodwin, 1994).

Genes não podem ser equiparados a organismos. Dado o importante papel que cabe aos produtos naturais micromoleculares na engrenagem dos ritmos de funcionamento de sistemas polinucleados, valeria a pena voltar ao organocentrismo *via* micromoléculas, ou seja, retornar aos desafios básicos que foram deixados para trás, talvez cedo demais, com o início da era macromolecular, genética.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BANNERMAN, R. H. Traditional medicine in modern health care. *World Health Forum*, v. 3, p. 8-16, 1982.
- BOUDET, A.; RANJEVA, R.; GADEL, P. Propriétés allostériques des deux isoenzymes de la phényl-alanine-ammoniaque lyase chez *Quercus pedunculata*. *Phytochemistry*, v. 10, p. 997-1005, 1971.
- BUTLER, L. G.; ROGLER, J. C.; MEHANSO, H.; CARLSON, D. M. Dietary effects of tannin. In: CODY, V.; MIDDLETON Jr., E.; HARBORNE, J. B. (ed.). *Plant flavonoids in biology and medicine: biochemical, pharmacological and structure-activity relationships*. New York: Alan R. Liss, 1986. p. 141-157.
- CAPRA, F. *A teia da vida. Uma nova compreensão científica dos sistemas vivos*. São Paulo: Cultrix, 1996. p.235.
- CRONQUIST, A. *The evolution and classification of flowering plants*. 2. ed. New York: The New York Botanical Garden, 1988.
- DAHLGREN, R. M. T. A revised System of Classification of the Angiosperms. *Bot. J. Linn. Soc.*, v.80, p.91-124, 1980.
- EHRlich, P. R. *O Mecanismo da natureza. O mundo vivo à nossa volta, e como funciona*. Rio de Janeiro: Campus, 1993. 328p.
- GOODWIN, B. *How the Leopard Changed Its Spots - The Evolution of Complexity*. New York: Charles Scribner, 1994, p. viii, 2, 3.
- GOTTLIEB, O. R.; BORIN, M.R. de M.B. The diversity of plants. Where is it? Why is it there? What will it become? *An. Acad. Bras. Ci.*, v. 66, n. 1, p. 55-83, 1994a.
- GOTTLIEB, O. R.; BORIN, M.R. de M.B. Biodiversity as a Base for Angiosperm Prospection. In: SEIDL, P. R. (ed.). *The Use of Biodiversity for Sustainable Development: Investigations of Bioactive Products and their Commercial Applications*. Rio de Janeiro: Associação Brasileira de Química, 1994b. p.23-36.
- GOTTLIEB, O. R.; BORIN, M. R. de M. B. Morphological and metabolic differenti-

- ation of Rubiaceae by ecogeographical transitions in South America. *Opera Bot. Belg.*, v. 7, p. 213-230, 1996.
- GOTTLIEB, O. R.; BORIN, M.R. de M.B. Evolution of Angiosperms via Modulation of Antagonisms. *Phytochemistry*, v.49, p.1-15, 1998.
- GOTTLIEB, O. R.; BORIN, M.R. de M.B. A universalidade de antagonismos. O potencial direcionador da ação do tempo modulado pelo potencial criativo da adaptação do espaço. In: NUSSENZVEIG, H. M. (ed.), *Complexidade e caos*. Rio de Janeiro: UFRJ, 1999. Capítulo XVIII, p.259-270.
- GOTTLIEB, O.R.; BORIN, M.R. de M.B. Shamanism or science? *An. Acad. Bras. Ci.*, v. 74, 2002 (no prelo).
- GOTTLIEB, O. R., BORIN, M. R. de M. B.; BOSISIO, B. M. Chemosystematic clues for the choice of medicinal and food plants in Amazonia. *Biotropica*, v. 27, p.401-406, 1995a.
- GOTTLIEB, O. R.; BORIN, M.R. DE M.B.; BRITO, N. S. R. de. Quantitative Chemobiology. *Pure & Appl. Chem.*, v.73, p. 583-588, 2001.
- GOTTLIEB, O.R.; BORIN, M.R. de M.B.; KAPLAN, M. A. C. Biosynthetic interdependence of lignins and secondary metabolites in angiosperms. *Phytochemistry*, v. 40, p. 99-113, 1995b.
- GOTTLIEB, O. R.; KAPLAN M. A. C. Phytochemical evolution: the redox theory. *Nat. Prod. Letters*, v. 2, p. 171-176, 1993.
- GOTTLIEB, O. R.; KAPLAN, M.A.C.; KUBITZKI, K. A suggested role of galloyl esters in the evolution of dicotyledons. *Taxon*, v. 42, p. 539-552, 1993.
- GOTTLIEB, O.R.; STEFANELLO, M.E.A. Comparative ethnopharmacology: a rational method for the search of bioactive compounds in plants. *An. Acad. Bras. Ci.*, v. 63, p. 23-31, 1991.
- GRIFFITH, D.W. The inhibition of digestive enzymes by polyphenolic compounds. In: FRIEDMAN, M. (ed.) *Nutricional and toxicological significance of enzyme inhibitors in foods*. New York: Plenum, 1986. p. 509-516.
- HARBORNE, J.B. *Introduction to ecological biochemistry*. 3. ed., London: Academic, 1988.
- HASLAM, E.; LILEY, T. H.; CAI, Y.; MARTIN, R.; MAGNOLATO, D. Traditional herbal medicines. The role of polyphenols. *Planta Medica*, v. 55, p. 1-8, 1989.
- HATANO, T.; EDAMATASU, R.; HIRZMATSU, M.; MORI, A.; FUJITA, Y.; YASUHARA, T.; YOSHIDA, T.; OKUDA, T. Effects of the interaction of tannins with co-existing substances. VI. Effects of tannins and related polyphenols on superoxide anion radical, and on 1,1-diphenyl-alpha-picrylhydrazyl radical. *Chem. Pharm. Bull.*, v. 37, p. 2016-2021, 1989.
- JOHNS, T. *With bitter herbs they shall eat it: chemical ecology and the origins of human diet and medicine*. Tucson: University of Arizona, 1990. p. 64.
- KAPLAN, M.A.C.; GOTTLIEB, O.R. Busca racional de princípios ativos em plantas. *Interciencia*, v. 15, p. 26-29, 1990.
- KUBITZKI, K.; GOTTLIEB, O. R. Micromolecular patterns and the evolution and major classification of angiosperms. *Taxon*, v. 33, p. 375-391, 1984.
- MOLE, S.; WATERMAN, P.G. Stimulatory effects of tannins and cholic acid on tryptic hydrolysis of proteins: ecological implications. *J. Chem. Ecol.*, v. 11, p. 1323-1332, 1985.
- OATES, J. F.; SWAIN, T.; ZANTOVSKA, J. Secondary compounds and food selection by colobus monkeys. *Biochem. Syst. Ecol.*, v. 5, p. 317-321, 1977.

- OKUDA, T.; YOSHIDA, T.; HATANO, T. Ellagitannins as active constituents of medicinal plants. *Planta Medica*, v. 55, p. 177-122, 1989.
- SCHAUFELBERGER, D.; HOSTETTMANN, K. On the molluscicidal activity of tannin containing plants. *Planta Medica*, v. 48, p. 105-107, 1983.
- SPORNE, K. R. A Re-investigation of Character Correlations among Dicotyledons. *New Phytol.*, v.85, p.419-499, 1980.
- VILLAS-BÔAS, O. In: XIMENES, A. Villas Bôas, o índio branco. *Jornal do Brasil*, set. 13, parte B, p.1, 1998.
- UNANDER, D.W.; WEBSTER, G.L.; BLUMBERG, B.S. Usage and bioassays in *Phyllanthus* (Euphorbiaceae). IV. Clustering of antiviral uses and other effects. *J. Ethnopharmacol.*, v. 45, p. 1-18, 1995.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION *Manual of the International Statistical Classification of Diseases, Injuries, and Causes of Death*, Geneva, 1977. v. 1.
- ZOCHER, D.H.T.; BORIN, M.R. de M.B.; GOTTLIEB, O.R. Quantitative chemical biology. III. Chemical mapping of Dilleniidae. *An. Acad. Bras. Ci.*, v.70, p.711-717, 1998.

8. SUGESTÕES PARA LEITURA

- GOTTLIEB, O.R. Ethnopharmacology versus chemosystematics in the search of biologically active principles in plants. *J. Ethnopharmacol.*, v. 6, p. 227-238, 1982.
- GOTTLIEB, O.R. *Micromolecular evolution, systematics and ecology: an essay into a novel systematic discipline*. Berlin: Springer, 1982.
- GOTTLIEB, O.R. Only science will reveal the full potentialities of medicinal plants. *World Health Forum*, v. 3, p. 14-16, 1982.
- GOTTLIEB, O.R. The role of oxygen in phytochemical evolution towards diversity. *Phytochemistry*, v. 28, p. 2545-2558, 1989.
- GOTTLIEB, O.R. Phytochemicals: differentiation and function. *Phytochemistry*, v.29, p. 1715-1724, 1990.
- GOTTLIEB, O.R. The rational search for natural neolignans. *Mem. Inst. Osw. Cruz*, v. 86, n. 2, p. 25-29, 1991.
- GOTTLIEB, O.R. Plant phenolics as expressions of biological diversity. In: HEMINGWAY, R. W.; LAKS, P. E. (ed.). *Plant polyphenols: synthesis, properties, significance*. New York: Plenum, 1992. p. 523-538.
- GOTTLIEB, O.R.; BORIN, M.R. de M.B. Biodiversity as base for angiosperm prospection. In: SEIDL, P.R. (ed.). *The use of biodiversity for sustainable development: investigation of bioactive products and their commercial applications*. Rio de Janeiro: Associação Brasileira de Química, 1994. p. 23-36.
- GOTTLIEB, O.R.; BORIN, M.R. de M.B.; KAPLAN, M.A.C. Biosynthetic interdependence of lignins and secondary metabolites in angiosperms. *Phytochemistry*, v. 40, p. 99-113, 1995.
- GOTTLIEB, O.R.; KAPLAN, M.A.C. Das plantas medicinais aos fármacos naturais. *Ciência Hoje*, v. 15, p. 51-54, 1993.
- GOTTLIEB, O. R.; KAPLAN, M.A.C.; BORIN, M.R. de M.B. *Biodiversidade. Um enfoque químico-biológico*. Rio de Janeiro: UFRJ, 1996. 267p.
- GOTTLIEB, O.R.; BORIN, M.R. de M.B. Natural products research in Brazil. *Ciência & Cultura*, v. 49, p. 315-320, 1997.
- GOTTLIEB, O.R.; BORIN, M.R. de M.B. The neotropical plant web. In: FREITAS,

- M. de L.D. de (ed.). *Amazonia: Heaven of a New World. A collection of articles on science and life in the Brazilian Amazon*. Rio de Janeiro: Campus, 1998. p. 71-79.
- GOTTLIEB, O.R.; BORIN, M.R. de M.B. Brazilian Journal of Medicinal Plants: What does it expect from its authors and readers? *Brazilian Journal of Medicinal Plants*, v. 1, introductory statement, 1998.
- GOTTLIEB, O.R.; BORIN, M.R. de M.B. Bioconnectivity: mechanism and modeling. *An. Acad. Bras. Ci.*, v. 71, p. 157-167, 1999.
- GOTTLIEB, O.R.; BORIN, M.R. de M.B. Biodiversity: Modelling Angiosperms as Networks. *Phytochemistry*, v.55, n.6, p.559-565, 2000.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o apoio recebido do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, da Academia Brasileira de Ciências e da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro.

ETNOFARMACOLOGIA COMO FERRAMENTA NA BUSCA DE SUBSTÂNCIAS ATIVAS

AUTOR

Elaine Elisabetsky
Gabriela Coelho de Souza

SUMÁRIO DO CAPÍTULO

1. Definições
2. Método etnofarmacológico
3. Etnofarmacologia e desenvolvimento de fármacos
4. Questões éticas na pesquisa etnofarmacológica
5. Referências bibliográficas
6. Sugestões para leitura

1. DEFINIÇÕES

Conhecer a ignorância é força
Ignorar o conhecimento é doença.
Confúcio

É importante esclarecer que a Etnofarmacologia não é uma roupagem nova ou versão moderna da Farmacognosia; Etnofarmacologia é uma disciplina, com métodos e racional próprios. A Etnofarmacologia está inserida no contexto da Etnobiologia, e esta é entendida como uma disciplina devotada ao estudo, no mais amplo dos sentidos, do complexo conjunto de relações de plantas e animais com sociedades humanas do presente e do passado (Berlin, 1992). Dentre as ramificações da Etnobiologia temos a Etnobotânica, que pode ser definida como o estudo das relações entre povos e plantas (Balick e Cox, 1996). Mais especificamente, a Etnofarmacologia é o ramo da Etnobiologia/Etnobotânica que trata de práticas médicas, especialmente remédios, usados em sistemas tradicionais de medicina. A definição mais aceita da Etnofarmacologia é "a exploração científica interdisciplinar dos agentes biologicamente ativos, tradicionalmente empregados ou observados pelo homem" (Bruhn e Holmstedt, 1982; Holmstedt e Bruhn, 1983).

Como estratégia para investigação de plantas medicinais, a abordagem etnofarmacológica consiste em combinar informações adquiridas junto a comunidades locais que fazem uso da flora medicinal com estudos químico/farmacológicos realizados em laboratórios especializados. O método etnofarmacológico permite a formula-

ção de hipóteses quanto à(s) atividade(s) farmacológica(s) e à(s) substância(s) ativa(s) responsáveis pelas ações terapêuticas relatadas pelas populações usuárias (Elisabetsky e Setzer, 1985; Elisabetsky, 1987). A seleção de espécies vegetais para pesquisa e desenvolvimento (P&D), baseada na alegação de um dado efeito terapêutico em humanos, pode se constituir num valioso atalho para a descoberta de fármacos, já que seu uso tradicional pode ser encarado como uma pré-triagem quanto à utilidade terapêutica em humanos (é óbvio que isso não implica admitir que as plantas medicinais ou remédios caseiros sejam destituídos de toxicidade). Outra vantagem é que a Etnofarmacologia se baseia em informações de utilidade terapêutica e não em um determinado perfil químico das espécies o que, em tese, indicaria a possibilidade de interação com um determinado alvo biológico. Essa abordagem é particularmente útil no caso de categorias de doenças cuja patofisiologia não é bem conhecida. A mesma linha de raciocínio pode ser aplicada com relação à descoberta de produtos protótipos, isto é, com mecanismos de ação diferentes dos até então conhecidos. A chamada abordagem mecanicista baseia-se na interferência dos produtos em teste com mecanismos farmacodinâmicos predeterminados, enquanto que a Etnofarmacologia, partindo de relatos de efeitos, pode levar à identificação de produtos com mecanismos de ação sequer considerados. Esse fato é tanto mais relevante quanto se considera que o chamado *drop out* (isto é, a desistência de um composto em P&D) continua a ser o maior impasse da indústria farmacêutica¹.

2. MÉTODO ETNOFARMACOLÓGICO

O mal dos que estudam as superstições é não acreditarem nelas.
Isso os torna tão suspeitos para tratar do assunto como um biologista
que não acreditasse em micróbios.

Mario Quintana

Freqüentemente, argumenta-se que a cultura popular identifica sintomas mas não caracteriza ou entende as doenças como as caracterizam os profissionais da área e conclui-se, por isso, que tais informações não servem de base para ajudar a desenvolver novos medicamentos. Trata-se afinal de cultura popular ou ciência? Folclore (do inglês *folk lore* = tribo saber) ou *know-how*? O que torna o conhecimento tradicional de interesse para a ciência é que se trata do relato verbal da observação sistemática de fenômenos biológicos feito por pessoas, quiçá freqüentemente iletradas, mas seguramente algumas tão

¹ A indústria farmacêutica considera razoável a relação de 1:10.000 entre os compostos comercializados/estudados; aquelas que contam com procedimentos de química combinatória, clonagem de receptores e automação/robotização têm como aceitável a relação de 1:250.000! Mesmo em casos em que se conhece o mecanismo de ação desejado e tem-se o ensaio *in vitro* apropriado para detectá-lo, a maior parte dos compostos que interage com a enzima ou o receptor em questão, não é, infelizmente, biodisponível ou acaba por demonstrar toxicidade inesperada.

perspicazes como o são alguns cientistas. A ausência de educação e cultura formais não é sinônimo de ausência de conhecimento; de fato, somos todos ignorantes quanto a culturas ou tecnologias que não conhecemos. Tal como o gerado nas universidades, o conhecimento tradicional é científico *porque* suas consequências são refutáveis; nisso difere da simples tradição, crença ou religião, embora em sistemas de medicina essas dimensões tendem a se misturar (afinal, quando uma operação de safena ou transplante, seja de que nível tecnológico for, dá certo a maioria de nós ainda exclama “Graças a Deus!” talvez antes de agradecer a equipe médica...). Assim, quando Tia Pixica, Dona Lulu e Seu Lauca dizem que as folhas de *fulaninha* (preparadas assim e usadas assado) curam aquele tipo especial de diarreia, o método etnofarmacológico permite a formulação destas hipóteses: H_0 = o remédio não cura aquele tipo de diarreia; H_1 = o remédio cura aquele tipo de diarreia (há no vegetal algum composto com atividade antimicrobiana ou antiviral?). Outro exemplo: dizem que um santo remédio para crise de asma é tomar o chá das raízes de *cicraninha*? H_0 = o remédio é útil no manejo da crise asmática; H_1 = o remédio não tem essa utilidade. Essas hipóteses deverão ser testadas com todos os controles e rigores que qualquer ciência séria exige, levando em consideração toda a informação - modo de preparo e posologia inclusos - que traz o conhecimento tradicional.

A Etnofarmacologia é uma disciplina de caráter multi e interdisciplinar, necessitando a interação e a cooperação entre profissionais de várias áreas do conhecimento. De maneira geral, um estudo etnofarmacológico envolve os seguintes passos:²

- 1) coleta e análise de dados etnofarmacológicos;
- 2) identificação botânica, incluindo depósito de material-testemunha em herbário;
- 3) pesquisa bibliográfica em bancos de dados de química e biologia em geral, e de plantas medicinais em particular, tais como *Chemical Abstracts*, *Biological Abstracts*, *Index Medicus*, *IPA*, *NAPRALERT*, entre muitos outros. Os dados quimiotaxonômicos podem sugerir a presença de uma (ou mais) determinada classe de substâncias químicas, a(s) qual(is) torna(m)-se objeto de hipóteses quanto à possível participação na atividade biológica;
- 4) análise química preliminar para detectar as classes de compostos presentes na parte da planta usada medicinalmente e na própria preparação tradicional; a interpretação do significado químico do modo de preparo popular é útil na definição de marchas fitoquímicas para obtenção dos extratos iniciais, já que as substâncias ativas devem estar presentes na preparação que é administrada aos usuários (Nunes, 1996);

² Os passos são apenas mostrados para visualizar-se o contexto do método, já que não é objeto deste capítulo a descrição/discussão abrangente de métodos químicos ou farmacológicos.

5) estudo farmacológico preliminar do(s) extrato(s) bruto(s) em modelos experimentais relevantes relacionados à(s) ação(ões) farmacológica(s) sugerida(s) pela análise da(s) informação(ões) popular(es);

6) fracionamento químico por métodos diversos (cromatográficos, diferenças de solubilidade, gradiente de pH, cristalizações sucessivas, etc.), monitorado com base nos resultados das análises farmacológicas; as frações de interesse farmacológico são mais profundamente estudadas com uso de técnicas analíticas (CCD, CG, CLAE, reações específicas);

7) estudo farmacológico abrangente e toxicologia pré-clínica de frações padronizadas, e/ou compostos isolados, e/ou formulação farmacêutica a ser comercializada, com objetivo de subsidiar os estudos clínicos;

8) elucidação das estruturas das substâncias ativas isoladas e/ou obtenção de derivados (UV, IV, RMN ^1H e ^{13}C , EM) orientam a farmacotécnica e o controle de qualidade químico/biológico, além de fundamentar futuros estudos farmacológicos com substâncias ativas semi-sintéticas.

Uma vez que as doenças são frequentemente entendidas de modo totalmente diverso em diferentes sistemas médicos e têm denominações diferentes, é pela compreensão dos conceitos de saúde/doença da população usuária, da análise dos sinais e sintomas associados à doença/distúrbio em questão, do modo de preparo do remédio, da posologia do tratamento tradicional, do detalhamento da atividade terapêutica alegada e pelas observações sobre as consequências do tratamento, que se pode correlacionar o uso tradicional com conceitos biomédicos modernos de nosologia e modo de ação de fármacos (Elisabetsky, 1986; Lipp, 1989; Etkin, 1993).

A metodologia farmacológica, quando aplicada ao estudo etnofarmacológico de produtos naturais, deve, necessariamente, sofrer modificações. A interação entre os laboratórios de química e farmacologia visa ao monitoramento farmacológico do fracionamento químico com o objetivo de identificar o(s) composto(s) ativo(s). Não se trata de isolar todos os compostos ou um composto em particular (por exemplo, o alcalóide principal em espécies que acumulam alcalóides); não importa caracterizar exaustivamente o perfil químico da espécie vegetal em questão e sim identificar o(s) composto(s) responsável(is) pela atividade farmacológica e/ou efeito terapêutico. Na fase de monitoramento do fracionamento químico, o trabalho farmacológico multiplica-se por tantas vezes quantas forem as frações produzidas pelo laboratório de fitoquímica, com um objetivo/alvo farmacológico selecionado, buscando diferenciar as frações ativas das inativas. O estudo farmacológico completo só é realizado com a fração, composto ou preparação galênica que se pretende usar nos estudos clínicos (Farnsworth e Morris, 1976; Farnsworth, 1989). Como não se sabe o que é ativo ou quais as bases farmacodinâmicas da atividade, na análise farmacológica a inclusão de modelos *in vivo* complementa a chamada abordagem mecanicista (em geral *in vitro*). Em todas as eta-

pas do trabalho, os dados devem ser interpretados à luz do relato dos usuários, desde o processamento utilizado para a elaboração do remédio até a posologia empregada.

O uso da expressão *sistema médico tradicional* não implica admitir que se trata de um sistema estático ou uma forma de retardo cultural (Alvarado, 1978), que não responde ou contrasta com a racionalidade e a modernidade (Rogers, 1990). A coexistência de vários sistemas de saúde utilizados em todo o mundo, bem como sua existência permeando diversas classes sociais, são evidências consideráveis de que a interação é dinâmica e que leva a alterações em todos os sistemas que coexistem. É absolutamente fundamental para a estratégia etnofarmacológica que se compreendam os conceitos do sistema do qual se obtêm as informações; observações fora do contexto são cientificamente inúteis. A Etnomedicina dedica-se ao estudo aprofundado de sistemas médicos enquanto sistemas culturais e mostra como conceitos médicos tradicionais se repetem (com variações locais) em diversas culturas (Foster, 1976; Kleinman, 1978, 1980; Worseley, 1982). Para uma melhor compreensão do método etnofarmacológico seguem-se alguns exemplos.

Historicamente, a região Amazônica tem sido ocupada por diversos grupos indígenas e por caboclos, um grupo que resultou da miscigenação de índios com os primeiros colonos portugueses e, mais tarde, com nordestinos de descendência africana (Parker, 1985). Conceitos médicos de caboclos incluem categorias de doenças que se acredita serem causadas por agentes naturais e forças sobrenaturais. Além disso, a obediência a normas sociais é reforçada pela noção de que certas doenças podem surgir em consequência da violação dessas regras. Em conformidade com esses conceitos, os curandeiros³ são especializados no manejo dessas várias categorias de doenças. As causas de doenças mais comumente relatadas por caboclos são os choques de temperatura (mudanças súbitas na temperatura do corpo), ramo de ar (súbitas correntes de ar), ingestão de comidas (especialmente as consideradas *remosas*, que vulnerabilizam as pessoas às doenças) (Maués, 1980), textura do sangue (fino ou grosso), flechada-de-bicho (animais considerados como entidades malignas que vivem na mata) (Galvão, 1955), quebranto ou mau-olhado (Dundes, 1981), feitiçaria, caruani (entidades religiosas de origem indígena) (Cas-cudo, 1962), espíritos ou *sombras* (de pessoas mortas), etc.

Os curandeiros podem ser classificados como (1) benzedeiras, pessoas com o dom de obter melhora ou cura com rezas especiais (Vilas-Boas da Motta, 1977); (2) puxadoras (massagistas), que se especializam em distúrbios músculo-esqueléticos; (3) raizeiros ou ervateiros, especialistas em plantas medicinais; (4) parteiras e (5) pajés, os mais próximos dos xamãs indígenas (Fi-

³ O termo curandeiro aqui usado inclui os vários tipos de agentes tradicionais de saúde, obviamente sem conotação pejorativa alguma.

gueiredo, 1976), considerados os mais poderosos e abrangentes dos curandeiros. Cabe dizer que o conhecimento de remédios caseiros é compartilhado com muitos membros da comunidade, facilitando a troca frequente de informações e tratamentos caseiros sem a interferência de qualquer curandeiro reconhecido como tal. Os meios terapêuticos, além das rezas, massagens e formulações com plantas e animais, incluem restrições de dieta e promessas para santos (Figueiredo, 1979). Como se sabe, muitos desses conceitos são encontrados em todas as regiões do Brasil. Quem não ouviu que andar de pé descalço no chão frio depois de banho quente dá resfriado? Ou que a dor de ouvido do bebê começou com aquela corrente de ar?

Uma doença que acomete caboclos é o *mal-de-guta*. Um pescador que sofra desse mal não pode, por exemplo, pescar só: se tiver um ataque perde os sentidos e/ou morrerá afogado ou asfixiado na areia. Durante o ataque os membros se movem ritmicamente (como que ondas de águas agitadas) e sai espuma pela boca, tal qual a espuma das ondas do mar. O *mal-de-guta* é causado pela *Mãe-d'água*, uma entidade que mora no fundo de rios e mares e que tenta levar as pessoas para ficarem com ela. Esses dados etnofarmacológicos levaram à hipótese de que o *mal-de-guta* seja um distúrbio epiléptico com convulsões generalizadas. Identificou-se que a receita mais indicada para esse mal (assim como outros tipos de convulsões) era um remédio que combinava os sumos (extraídos mecanicamente e em temperatura ambiente) de algumas folhas frescas de *Cissus sicyoides* L. (lá conhecido como cipó-pucá), algumas poucas folhas frescas de *Ruta graveolens* L. (lá conhecida como ar-ruda), um punhado de folhas frescas de *Aeolanthus suaveolens* G. Don (lá conhecida como catinga-de-mulata) e uma colher de sementes de gergelim, preferencialmente do preto (Elisabetsky e Setzer, 1985). A mistura assim obtida era filtrada através de um pedaço de pano e ingerida oralmente. Os detalhes da preparação eram algo variáveis, mas os ingredientes principais permaneciam constantes. Essa receita, e cada uma das espécies que a compõe, foram então analisadas com modelos apropriados como possíveis fontes de compostos anticonvulsivantes, resultando na identificação de lactonas com ação anticonvulsivante, que corroboram o uso popular (Elisabetsky et al., 1995a,b; Pereira et al., 1997; Souza et al., 1997).

Um outro exemplo é o raciocínio seguido por Dahanukar e Thatte (1997) quanto aos *rasayana* usados na medicina ayurveda⁴. *Rasayana* é um tipo de terapia com a qual se obtém *longevidade, recupera-se a juventude, melhora-se a memória e o desempenho intelectual, e livra-se de doenças*. Várias plantas têm propriedades *rasayana*, fortificando órgãos ou tecidos específicos. Para a me-

⁴ Ayurveda é uma palavra que vem do sânscrito (*Ayur* = vida e *veda* = conhecimento). É uma ciência que nasceu na Índia e tenta conhecer melhor o corpo humano, para, então, harmonizá-lo. Seus primeiros tratados sobre higiene, diagnóstico e terapias datam entre 3000 e 8000 a.C.

dicina ayurveda, a saúde tem base no tripé formado por *dosha* (humores), *dhatu* (tecidos) e *mal* (produtos metabólicos dos tecidos). Com o objetivo de investigar como os *rasayanas* pudessem ter uma variedade tão vasta de efeitos, foi formulada a hipótese de que as plantas consideradas como *rasayana* estariam modulando um sistema endógeno do organismo, iniciando uma cascata de eventos que resultasse em múltiplos efeitos. Usando a psiconeuroimunologia como referência, foram delineados experimentos, e espécies vegetais foram selecionadas para testar essa hipótese. Os autores concluíram que é possível que os *rasayanas*, especialmente os que são considerados adaptógenos⁵ (Wagner et al., 1994), atuem principalmente as células do sistema imune, levando à secreção de citocinas que, por sua vez, atuam em múltiplos alvos celulares produzindo a miríade de efeitos descritos para estes tratamentos.

Um outro exemplo de pesquisa etnofarmacológica refere-se ao uso de placenta seca de ovelhas na prática obstétrica de parteiras nigerianas. Os autores realizaram uma série de experimentos com preparações de placenta seca, em salina, e de placenta fresca, concluindo que a seca contém uma substância coriônica oxiotóxica, com ação independente da estimulação de receptores H₁ ou muscarínicos, o que constitui uma base racional para esse uso tradicional. Verificaram, ainda, que a atividade oxiotóxica se perde com pH muito baixo e, por isso, sugeriram o uso concomitante de antiácidos, a fim de proteger o preparado da ação do suco gástrico das parturientes (Onuaguluchi e Ghasi, 1996).

Já que os sistemas médicos são produtos de culturas específicas com enorme variação em termos de práticas e crenças de saúde, uma detalhada base etnofarmacológica é necessária para selecionar espécies que possam ser fontes de drogas eficazes transculturalmente (Elisabetsky e Posey, 1994). Estratégias baseadas no método etnofarmacológico têm sido aplicadas a várias áreas terapêuticas tais como câncer (Duke, 1986; Cordell et al., 1991), imunomoduladores (Labadie et al., 1989), alergia (Elisabetsky e Gely, 1987; Wagner, 1989), contraceptivos (Pei-Gen e Nai-Gong, 1991), analgésicos (Elisabetsky e Castilhos, 1990), antimaláricos (Phillipson e Wright, 1991; Brandão et al., 1992), anti-diarréicos/antimicrobianos (Cáceres et al., 1990; Heinrich et al., 1992a,b), antivirais (Vlietinck e van der Berghe, 1991) e anti-diabéticos (Oubré et al., 1997).

A vasta gama de informações sobre o uso de centenas de plantas como “remédios” em todos os lugares do mundo leva à necessidade de se desenvolver métodos que facilitem a enorme tarefa de avaliar cientificamente o valor terapêutico de espécies vegetais (Nunes, 1996). Como a maior parte da flora é ainda desconhecida do ponto de vista químico, bem como o saber tradicional associado à flora útil, predominantemente em países em desenvolvimento, a perda da biodiversidade e o acelerado processo de mudança

⁵ Adaptógenos são definidos como substâncias que induzem um estado aumentado de resistência inespecífica permitindo ao organismo combater e adaptar-se a esforços excepcionais.

cultural acrescentam um senso de urgência em garantir o registro desse saber, inclusive para uso científico.

3. ETNOFARMACOLOGIA E DESENVOLVIMENTO DE FÁRMACOS

Se o conhecimento indígena for seriamente considerado pela ciência moderna e incorporado em programas de pesquisa e desenvolvimento, os indígenas serão apreciados pelo que são: povos ingênuos, inteligentes e práticos, que sobreviveram com sucesso por milhares de anos na Amazônia.

Darrell Addison Posey

A descoberta de fármacos tem sido principalmente um esforço do setor industrial. Os medicamentos inovadores têm sido obtidos pela triagem intensiva de muitos compostos para uma dada atividade (Maxwell, 1984). Produtos naturais têm sido tradicionalmente empregados na identificação de receptores e na investigação de funções fisiológicas e patofisiológicas e de sítios de ação de fármacos. Exemplos clássicos incluem nicotina, fisostigmina, muscarina, pilocarpina e atropina no estudo de receptores nicotínicos e muscarínicos; um exemplo mais recente inclui os ésteres de forbol na compreensão do ciclo do fosfatidilinositol como mecanismo de transdução celular (Evans, 1993).

Uma medida do valor do conhecimento tradicional no desenvolvimento de novos fármacos só seria possível se fossem comparados os resultados (inclusive sob o aspecto da relação do custo/benefício) de uma amostra razoável de pesquisas feitas com base em coletas ao acaso, orientadas por quimiotaxonomia ou baseadas em dados etnofarmacológicos. Infelizmente, a maioria das indústrias não publica seus resultados negativos, ou mesmo os positivos em termos estritamente farmacológicos, que por quaisquer outras razões, não serão aproveitados comercialmente.

No entanto, alguns dados são indicativos dessa relação. A comparação de resultados obtidos com coleta de plantas ao acaso ou quimiotaxonomicamente orientadas com aqueles obtidos com base no uso em medicina popular tem gerado dados que demonstram que o conhecimento tradicional é indicativo de espécies que acumulam compostos bioativos. Analisando compostos com potencial anticancerígeno, Spjut e Perdue (1976) verificaram que a porcentagem de gêneros e/ou espécies vegetais ativas, citadas em compêndios de plantas medicinais, é consistentemente próxima ao dobro das de triagem ao acaso. Vlietinck e van der Berghe (1991) relataram que a seleção de plantas com atividade antiviral, baseada no uso tradicional, mostrou uma porcentagem cinco vezes maior de substâncias ativas. Os dados mostrados na tabela 1, publicados pela indústria Shaman

Pharmaceuticals, a única a usar Etnobotânica como eixo central de seu programa de P&D, corroboram os dados acadêmicos no contexto industrial (Carlson et al., 1997).

TABELA I

Comparação das frequências de compostos ativos isolados usando a abordagem da indústria farmacêutica Shaman e de seleção randômica

SHAMAN PHARMACEUTICALS			
Área	Número de Plantas Testadas	Números de Compostos Ativos Isolados	% de Compostos Ativos
RSV	97	8	8,2
FLU	123	2	1,6
CMV	231	5	2,2
INDÚSTRIA EM GERAL			
Área	Número de Produtos Naturais Testados	Números de Compostos Ativos Isolados	% de Compostos Ativos
HSV	15.000	2	0,013

RSV: Respiratory Syncytial Virus; FLU: Influenza (gripe); CMV: Citomegalovírus; HSV: Herpes Simplex Virus

Como dito acima, no contexto do desenvolvimento de fármacos, o interesse em medicinas tradicionais praticamente resume-se as plantas neles usadas, na esperança de que ao menos em parte as que são usadas na preparação de remédios populares devem conter compostos químicos de interesse farmacêutico (Balandrin et al., 1985; Abelson, 1990). No entanto, o fato de que os sistemas médicos tradicionais são organizados como sistemas culturais permite profundas diferenças nos significados de saúde, doença e etiologias (Bastien, 1985; Whyte, 1982). Em consequência, tais diferenças resultam em uma variedade de práticas terapêuticas que não são facilmente acomodadas ou compreendidas no paradigma biomecânico da medicina contemporânea ocidental. Conceitos como dieta, medidas preventivas, manutenção do bem-estar, posologias de longo prazo/baixa dosagem, misturas complexas e/ou mecanismos de ação complexos e multifacetados, frequentemente centrais em sistemas médicos tradicionais, apenas recentemente, começaram a ser devidamente apreciados no ocidente.

A compreensão de tais peculiaridades em termos farmacodinâmicos pode ser útil no desenvolvimento de novos paradigmas de fármacos e seus modos de uso e de ação (Elisabetsky, 2002). Ao menos no que se refere ao sistema nervoso central, tem-se chamado a atenção para o fato de que *é a resposta adaptativa do sistema nervoso a uma adequada e repetitiva perturbação mediada pelos alvos iniciais (receptores) que produzem as respostas terapêuticas* (Hyman and Nestler, 1996). Remédios tradicionais, frequentemente indicados por longo pra-

zo, contendo baixas doses de um ou vários compostos ativos estão em linha com este novo paradigma, como é o caso de *Ginkgo biloba* L. (De Feudis, 1991), alcalóides de *Psychotria* (Amador et al., 2001), compostos antipsicóticos em *Rauvolfia* (Costa-Campos et al., 1998), entre muitos outros.

Os progressos em Farmacodinâmica estão constantemente revelando novos alvos celulares e moleculares relevantes para ação de fármacos; pode-se esperar que remédios tradicionais possam atuar como modificadores do curso natural de patologias por mecanismos fisiológicos que ainda sequer conhecemos (Elisabetsky, 2002).

4. QUESTÕES ÉTICAS NA PESQUISA ETNOFARMACOLÓGICA

Os brancos tem que nos dar as mãos para que,
juntos, possamos no futuro construir formas de bem viver.
Marcos Terena

Os resultados da pesquisa com plantas medicinais podem ter desdobramentos em vários níveis. Individualmente, a descoberta de novos fármacos ou de fármacos acessíveis pode determinar a melhoria da qualidade de vida em doenças crônicas ou a própria sobrevivência do paciente afetado. Socialmente, a descoberta de fontes naturais e locais de compostos químicos usualmente importados e/ou o desenvolvimento de fitoterápicos de fabricação nacional pode ter consequências econômicas significativas, além de possibilitar a autonomia de cada país no gerenciamento de suas políticas de saúde. Por parte do setor empresarial, a indústria farmacêutica movimenta importantes volumes de capital, na ordem de bilhões de dólares americanos, e a busca de fármacos-protótipos envolve milhões de dólares de investimentos em ciência e tecnologia. Ao se considerar valores econômicos, é necessário lembrar que o valor econômico representa todos os benefícios sociais de um certo produto (empregos, impostos, etc.) e não apenas o valor de mercado (Principe, 1989). Assim, do ponto de vista ecológico, a descoberta de fármacos de origem vegetal é um forte argumento conservacionista. O valor econômico da preservação de plantas medicinais (e o saber a elas associado) inclui diversos benefícios sociais, tais como atividades econômicas ligadas ao plantio, processamento e comercialização, melhores condições de assistência de saúde, menor perda de dias de trabalho, além da possibilidade de substituição de fármacos importados, do surgimento de novos modelos para síntese de fármacos e de ferramentas farmacológicas, da conservação de recursos genéticos como fonte potencial de fármacos para doenças ainda desconhecidas e/ou de novos compostos ativos contra microorganismos resistentes, além dos óbvios benefícios ambientais (pela preservação dos ecossistemas).

Notícias sobre descobertas de produtos naturais que beneficiam a sociedade de uma forma ou de outra têm se tornado mais frequentes. Uma parte significativa dessas descobertas tem como ponto de partida a informação obtida de co-

munidades tradicionais que incorporam produtos naturais em suas práticas de sobrevivência e manejo do meio ambiente. As disciplinas de Etnobotânica e Etnofarmacologia assumem nesse contexto um papel de interlocutor entre o conhecimento tradicional e a sua utilização comercial, já que essas disciplinas resgatam e organizam os conhecimentos tradicionais de maneira utilizável por processos de desenvolvimento tecnológico (Elisabetsky e Moraes, 1989). A criação de instrumentos legais, no âmbito nacional e internacional, para a proteção dos conhecimentos e tradições das comunidades locais e indígenas, é um dos aspectos que tem merecido maior atenção no contexto da implementação da Convenção da Biodiversidade, firmada no Rio de Janeiro em junho de 1992 (vide capítulo “Biodiversidade: aspectos biológicos, geográficos, legais e éticos”; Elisabetsky, 1990; Cunningham, 1993). Quando o conhecimento tradicional foi crucial para a identificação da espécie e/ou sua propriedade farmacológica, não há como ser negado o *input* intelectual e, portanto, o direito de propriedade intelectual tal qual reconhecem as leis vigentes. Um obstáculo importante é o reconhecimento da propriedade intelectual em conhecimentos compartilhados numa comunidade ou povo e a adequação das leis vigentes nesse sentido (Posey e Dutfield, 1996).

A análise do histórico de uso e de desenvolvimento de algumas espécies sul-americanas comercializadas como medicamentos (Elisabetsky et al., 2002) evidencia alguns aspectos aqui merecedores de discussão. O impacto da mídia pode ser significativamente deletério sobre o comércio, uso e as populações nativas de espécie medicinais. Este foi o caso do ipê-roxo [*Tabebuia impetiginosa* (Mart. ex DC.) Standl.], explorado pela presença do lapachol, e da unha-de-gato [*Uncaria tomentosa* (Willd. ex Roem et Schult.) DC.], com o componente ativo ainda não identificado). Estas espécies apresentaram indícios de atividade antitumoral *in vitro* que não foram suficientemente confirmados em estudos *in vivo*. Estes resultados iniciais foram amplamente divulgados e algo deturpados, estimulando o aumento da demanda e conseqüente depredação (ver Obregon Vilches, 1994, quanto à *Uncaria*; o caso da *Tabebuia impetiginosa* é mencionado nos capítulos “Nomenclatura botânica, classificação e identificação de plantas medicinais” e “Quinonas”).

Devido às características botânicas e ecológicas, algumas espécies exigem o cultivo agroflorestal como forma de produção efetiva associada à preservação ambiental. Este é o caso da ipeca [*Psychotria ipecacuanha* (Brot.) Stokes (= *Cephaelis ipecacuanha* (Brot.) A. Rich.)], da qual se extrai a emetina, do sangue-de-dragão (*Croton lechleri* Muell. Arg., do qual se comercializa o látex), da copaíba (*Copaifera langsdorffii* Desf., devido a sua oleoresina, ver capítulo “Biodiversidade natural e aspectos agronômicos de plantas medicinais”) e da espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reissek, que contém, entre outros compostos, maitenina, pristimerina, tingenona; ver capítulo “Biodiversidade natural e aspectos agronômicos de plantas medicinais”). No caso da copaíba e do sangue-de-dragão, as práticas de manejo tradicional trazem subsídios importantes para o manejo sustentável, tal como verificado em outros países e espécies medicinais (An-

derson e Posey, 1987; Anderson e Posey, 1989; Etkin, 2002). De acordo com os princípios da Convenção da Diversidade Biológica, é este manejo que pode muitas vezes tornar-se uma alternativa de desenvolvimento econômico sustentável e ambientalmente correto para as comunidades tradicionais que as exploram. Exemplos de manejo por grupos tradicionais incluem: a extração de látex de *Croton lechleri* Mueil. Arg. por comunidades da Amazônia Peruana (Meza et al., 1998), a extração de oleoresina de *Copaifera langsdorffii* Desf. por moradores de Reservas Extrativistas da região central do Brasil (Elisabetsky et al., 2002), a extração de folhas de *Pilocarpus microphyllus* Stapf ex Wardleworth por índios Apinajé no nordeste do Brasil (Balick e Cox, 1996; Magalhães, 2000), produção de sementes de guaraná (*Paullinia cupana* Kunth) por indígenas do grupo Maués na Amazônia brasileira (ver capítulo "Metilxantinas").

O respeito ao meio ambiente, bem como ao estilo tradicional de vida das comunidades tradicionais, é essencial ao desenvolvimento sustentável e à manutenção da biossociodiversidade do planeta (Posey, 1983). O valor comercial decorrente da exploração acadêmica e industrial de tais conhecimentos é incomensurável, o que apenas aumenta a responsabilidade de todos no manejo de informações etnofarmacológicas.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABELSON, P.H. Medicine from Plants. *Science*, n. 247, p. 513, 1990.
- ALVARADO, L. Medical anthropology and the health professions: selected literature review. In: BAUWENS, E.E. (ed.). *The anthropology of health*. St.Louis: C.V.Mosby, 1978.
- AMADOR, T.A.; VEROITTA, L.; NUNES, D.S.; ELISABETSKY, E. Involvement of NMDA receptors in the analgesic properties of psychotridine. *Phytochemistry*, v. 8, n. 3, p. 202-206, 2001.
- ANDERSON, A.B. e POSEY, D.A. Reflorestamento indígena. *Ciência Hoje*, v. 6, n. 31, p. 44-50, 1987.
- ANDERSON, A.B. e POSEY, D.A. Management of a tropical scrub savanna by the Gorotire Kayapó of Brazil. *Advances in Economy Botany*, v. 7, p. 159-173, 1989.
- BALANDRIN, M. F.; KLOCKE, J. A.; WURTELE, E. S.; BOLLINGER, W. H. Natural Plant Chemicals: Sources of Industrial and Medicinal Materials. *Science*, n. 228, p. 1154-1160, 1985.
- BALICK, M.J. e COX, P.A. People and plants. In: BALICK, M.J. e COX, P.A. *Plants, people, and culture. The science of ethnobotany*. New York: Scientific American Library, 1996, p. 1-23.
- BASTIEN, J.W. Qollahuaya-Andean Body Concepts: a Topographical-Hydraulic Model of Physiology. *American Anthropologist*, v. 87, p. 595-611, 1985.
- BERLIN, B. On the Making of a Comparative Ethnobiology. In: PRINCETON University (ed.). *Ethnobiological classification: principles of categorization of plants and animals in traditional societies*. Princeton, 1992, p. 3-51.
- BRANDÃO, M. G. L.; GRANDI, T. S. M.; ROCHA, E. M. M.; SAWYER, D. R.; KRETTLI, A.U. Survey of medicinal plants used as antimalarials in the Amazon. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 36, n. 2, p.175-182, 1992.

- BRUHN, J. G.; HOLMSTEDT, B. Ethnopharmacology, Objectives, Principles and Perspectives. In: BEAL, J. L.; REINHARD, E. (ed.). *Natural products as medicinal agents*. Stuttgart: Hippokrates, 1982. p. 405-430.
- CÁCERES, A.; CANO, O.; SAMAYOA, B.; AGUILAR, L. Plants used in Guatemala for the treatment of gastrointestinal disorders: I. Screening of 84 plants against enterobacteria. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 30, p. 55-73, 1990.
- CARLSON, T. J.; COOPER, R.; KING, S. R.; ROZHON, E. J. Modern science and traditional healing. *Royal Society of Chemistry*, n. 200, p. 84-95, 1997.
- CASCUDO, L. C. *Dicionário do folclore brasileiro*. Rio de Janeiro: Instituto Nacional do Livro/MEC, 1962.
- CORDELL, C. A.; BEECHER, C. W. W.; PEZZUTO, J. M. Can ethnopharmacology contribute to the development of new anticancer drugs? *Journal of Ethnopharmacology*, v. 32, p. 117-133, 1991.
- COSTA-CAMPOS, L.; LARA, D. R.; NUNES, D. S.; ELISABETSKY, E. Antipsychotic-like Profile of Alstonine. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, v. 60, n. 1, p. 133-141, 1998.
- CUNNINGHAM, A. B. *Ethics, ethnobiological research, and biodiversity*. Gland: WWF International Publications, 1993.
- DAHANUKAR, S. A.; THATTE, U. M. Current status of Ayurveda in phytomedicine. *Phytomedicine*, v. 4, n. 4, p. 359-368, 1997.
- DE FEUDIS, F. V. In Vivo Studies with Egb 761. In: DE FEUDIS, F. V. (ed.). *Ginkgo biloba Extract (Egb 761): Pharmacological Activities and Clinical Applications*. Paris: Elsevier, 1991. p. 61-96.
- DUKE, J. A. Folk anticancer plants containing antitumor compounds. In: ETKIN, N. L. (ed.). *Plants in indigenous medicine and diet - biobehavioral approaches*. New York: Redgrave, 1986. p. 70-90.
- DUNDES, A. *The evil eye: a folklore case book*. New York: Garland, 1981. v. 2.
- ELISABETSKY, E. New directions in ethnopharmacology. *Journal of Ethnobiology*, v. 6, n. 1, p. 121-128, 1986.
- ELISABETSKY, E. *From indigenous disease concepts to laboratory working hypothesis: the case of "Nerve Tonics" from the Brazilian Amazon*. Stockholm: IFS, Grev Turegatan, 1987. *Provisional Report Series*, v. 19, p. S-11438.
- ELISABETSKY, E. Sociopolitical, economic and ethical issues in medicinal plant research. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 32, p. 235-239, 1990.
- ELISABETSKY, E. Traditional medicines and the new paradigm of psychotropic drug action. In: IWU, M. M.; WOOTTON, J. (ed.) *Ethnomedicine and drug development*. 2002. *Advances in Phytomedicine Series*, v. 1, p. 133-144.
- ELISABETSKY, E.; CASTILHOS, Z. C. Plants used as analgesics by Amazonian caboclos as a basis for selecting plants for investigation. *International Journal of Crude Drug Research*, v. 28, p. 49-60, 1990.
- ELISABETSKY, E.; GELY, A. Plantes médicinales utilisées en Amazonie comme fond potentiel de nouveaux agents thérapeutiques dans les cas d'allergie, thrombose et inflammation. *Journal of Agriculture and Tropical Botanic Application*, v. 36, p. 143-151, 1987.
- ELISABETSKY, E.; HAAS, A. P. S.; COELHO DE SOUZA, G. P. Development of medicinal plant based drugs and the conservation of biodiversity: case studies from South America. In: CHINA BEIJING INTERNATIONAL HIGH-TECH INDUSTRIES WEEK, 5/ INTERNATIONAL CONFERENCE ON APPLICA-

- TION OF HIGH-NEW SCIENCE AND TECHNOLOGY IN BIODIVERSITY CONSERVATION AND UTILIZATION, 3. *Annals* (no prelo), 2002.
- ELISABETSKY, E.; MARSCHNER, J.; SOUZA, D.O. Effects of Linalool on glutamatergic transmission in the rat cerebral cortex. *Neurochemical Research*, v. 20, n. 4, p. 391-395, 1995a.
- ELISABETSKY, E.; MORAES, J.A.R. Ethnopharmacology as an instrument for technological development. In: ELISABETSKY, E. (ed.). *Annals of the 1st. International Congress of Ethnobiology*, 1989. v. 2, part E., p. 111-118.
- ELISABETSKY, E.; POSEY, D.A. Ethnopharmacological search for anti-viral compounds: treatment of gastrointestinal disorders by Kayapó medical specialists. *CIBA Foundation Symposia*, n. 185, p. 77-94, 1994.
- ELISABETSKY, E.; SETZER, R. Caboclo concepts of disease, diagnosis and therapy: implications for ethnopharmacology and health systems in Amazonia. In: PARKER, E.P. (ed.). *The Amazon Caboclo: historical and contemporary perspectives*. Williamsburgh: Studies on Third World Societies Publication Series, v.32, p. 243-278, 1985.
- ELISABETSKY, E.; SOUZA, G.P.C.; SANTOS, M.A.C.; SIQUEIRA, I.R.; AMADOR, T.A.; NUNES, D.S. Sedative properties of Linalool. *Fitoterapia*, v. 66, n.5, p. 407-414, 1995b.
- ETKIN, N.L. Antropological Methods in Ethnopharmacology. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 38, n. 2-3, p. 93-104, 1993.
- ETKIN, N.L. Local knowledge of biotic diversity and its conservation in rural Hausaland, Northern Nigeria. *Economic Botany*, v. 56, n. 1, p. 73-88, 2002.
- EVANS, F.J. Natural products as probes for new drug target identification. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 32, n. 1-3, p. 91-101, 1993.
- FARNSWORTH, N.R. Screening plants for new medicines. In: WILSON, E.O. (ed.). *Biodiversity*. Washington: National Academy, 1989. Part II, cap. 9, p. 83-97.
- FARNSWORTH, N. R.; MORRIS, R.W. Higher plants - the sleeping giant of drug development. *American Journal of Pharmaceutical Education* v. 148, 46-52, 1976.
- FIGUEIREDO, N. A Pajelança e catimbó na região Bragantina. *Revista do Instituto Histórico e Geográfico de Alagoas*, v. 32, 1976.
- FIGUEIREDO, N. *Rezadores, pajés e puçangas*. Belém: Boitempo, UFPA, 1979.
- FOSTER, G.M. Disease etiologies in non-western medical systems. *American Anthropologist*, v. 78, p. 773-782, 1976.
- GALVÃO, E. *Santos e visagens*. São Paulo: Brasiliana, 1955. v. 248.
- HEINRICH, M. et al. Indigenous phytotherapy of gastrointestinal disorders in a lowland Mixe community (Oaxaca, Mexico): ethnopharmacologic evaluation. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 36, n. 1, p. 63-80, 1992a.
- HEINRICH, M. et al. Parasitological and microbiological evaluation of Mixe Indian medicinal plants (Mexico). *Journal of Ethnopharmacology*, v. 36, n. 1. p. 81-85, 1992b.
- HOLMSTEDT, B.; BRUHN, J.G. Ethnopharmacology - a challenge. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 8, p. 251-256, 1983.
- HYMAN S.E.; NESTLER E.J. Initiation and Adaptation: a Paradigm for Understanding Psychotropic Drug Action. *American Journal of Psychiatry*, v. 152, p 151-162, 1996.
- KLEINMAN, A. Concepts and a model for comparison of medical systems as cultural systems. *Social Sciences and Medicine*, v. 12, p. 85-93, 1978.

- KLEINMAN, A. Patients and healers in the context of culture. In: *Comparative studies of health systems and medical care*. Berkeley: University of California, 1980. n. 3, cap. 6, p. 179-202.
- LABADIE, R. P.; VAN DER NAT, J. M.; SIMONS, J. M.; KROES, B. H.; KOSASI, S.; VAN DER BERG, A. J. J.; 'T HART, L. A.; VAN DER SLUIS, W. G.; ABEYSEKERA, A.; BAMUNUARACHCHI, A.; DE SILVA, K. T. D. An ethnopharmacological approach to the search for immunomodulators of plant origin. *Planta Medica*, v. 55, p. 339-348, 1989.
- LIPP, F. J. Methods for ethnopharmacological field work. *J. Ethnopharmacology*, v. 25, n. 2, p. 139-150, 1989.
- MAUÉS, R. H. Estudo do fenômeno religioso numa comunidade amazônica. *Série de Seminários e Debates*, Belém: UFPA, 1980. v. 3.
- MAGALHÃES, P. M. Agrotecnología para el cultivo de jaborandi el remedio milagroso. In: BERNAL, J. V. M.; CÁCERES, A. (org.) *Fundamentos de Agrotecnología de Cultivo de Plantas Medicinales Iberoamericanas*. Bogotá: Santafé, 2000. p. 341-348.
- MAXWELL, R. A. The state of the science of drug discovery - an opinion. *Drug Development Research*, v. 4, p. 375-389, 1984.
- MEZA, E.; AYALA, F.; CASTEÑEL, M.; FORERO, L. E.; PEÑA, M.; ORTIZ, A.; KING, S.; BORGES, J. R. *Sustainable Harvesting of Sangre de Drago or Sangre de Grado - Educational Material*. San Francisco: Shaman Pharmaceuticals and The Healing Forest Conservancy, 1998.
- NUNES, D. S. Chemical approaches to the study of ethnomedicinal. In: BALICK, M.; ELISABETSKY, E.; LAIRD, S. (ed.). *Medicinal resources of the tropical forest: biodiversity and its importance to human health*. New York: Columbia Univ., 1996. p. 41-47.
- OBREGON VILCHES, L. E. "Uña de gato" *Genere Uncaria. Estudios Botánicos, Químicos y Farmacológicos de Uncaria tomentosa, Uncaria guianensis*. Lima: Instituto de Fitoterapia Americano, 1994.
- ONUAGULUCHI, G.; GHASI, S. The pharmacological basis for the use of dried sheep placenta in traditional obstetric practice in Nigeria. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 54, p. 27-36, 1996.
- OUBRE, A. Y.; CARLSON, T. J.; KING, S. R.; REAVEN, G. M. From plant to patient: an ethnomedical approach to the identification of new drugs for the treatment of NIDDM. *Diabetology*, v. 40, p. 614-617, 1997.
- PARKER, E. P. Cabocloization: the transformation of the Amerindian in Amazonia 1615-1800. In: PARKER, E. P. (ed.). *The Amazon Caboclo: historical and contemporary perspectives*. Williamsburgh: Studies in Third World Societies, 1985. v. 32, p. 1-50.
- PEI-GEN, X.; NAI-GONG, W. Can ethnopharmacology contribute to the development of anti-fertility drugs? *Journal of Ethnopharmacology*, v. 32, p. 167-177, 1991.
- PEREIRA, P.; ELISABETSKY, E.; SOUZA, D. O. Effect of g-decanolactone on glutamate binding in rat cerebral cortex. *Neurochemical Research*, v. 22, n. 12, p. 1507-1510, 1997.
- PHILLIPSON, J. D.; WRIGHT, C. W. Can ethnopharmacology contribute to the development of antimalarial agents? *Journal of Ethnopharmacology*, v. 32, p. 155-166, 1991.
- POSEY, D. A. Indigenous and development: an ideological bridge to the future. *Ciência e Cultura*, v. 35, n. 7, p. 877-894, 1983.

- POSEY, D.A.; DUTFIELD, G. *Beyond intellectual property: toward traditional resource rights for indigenous peoples and local communities*. Ottawa: International Development Research Centre, 1996.
- PRINCIPE, P.P. The economics and significance of plants and their constituents as drugs. In: WAGNER, H.; HIKINO, H.; FARNSWORTH, N.R. (ed.). *Economic and medicinal plant research*. New York: Academic, 1989. v. 3, p. 1-17.
- ROGER, S. French trajectories. *Shaping modern times in rural Aveyron*. Princeton: Princeton Univ., 1990. p. 123.
- SPJUT, R. W.; PERDUE Jr., R. E. Plant folklore: a tool for predicting sources of anti-tumor activity? *Cancer Treatment Report*, v. 60, n. 8, p. 979-985, 1976.
- VILAS-BOAS DA MOTA, A. *Rezas, benzedeiros et cetera*. Goiás: Oriente, 1977.
- VLIETINCK, A. J.; VAN DER BERGHE, D. A. Can ethnopharmacology contribute to the development of antiviral agents? *Journal of Ethnopharmacology*, v. 32, n. 1-3, p. 141-154, 1991.
- WAGNER, H. Search for new plant constituents with potential antiproliferative and anti-allergenic activity. *Planta Medica*, v. 55, p. 235-241, 1989.
- WAGNER, H.; NÖRR, H.; WINTERHOFF, H. Plant Adaptogens. *Phytomedicine*, v. 1, p. 63-76, 1994.
- WHYTE, S.R. Penicillin, Battery Acid and Sacrifice: Cures and Causes in Nyole Medicine. *Social Science and Medicine*, v. 16, n. 23, p. 2055-2064, 1982.
- WING, D.M. A comparison of traditional folk healing concepts with contemporary healing concepts. *Journal of Community Health Nursing*, v. 15, n. 3, p. 143-154, 1998.
- WORSELEY, P. Non-western medical systems. *Ann. Review of Anthropology*. v. 11, p. 315-348, 1982.

6. SUGESTÕES PARA LEITURA

- BALICK, M.J.; COX, P.A. *Plants, people, and culture*. New York: The Science of Ethnobotany. Scientific American Library, 1996, p. 227.
- BALICK, M.J.; ELISABETSKY, E.; LAIRD, S.A. (ed.). *Medicinal resources of the tropical forest*. Biodiversity and its importance to human health. New York: Columbia University, 1996, p. 440.
- DI STASI, L.C. *Plantas medicinais: arte e ciência*. Um guia de estudo interdisciplinar. São Paulo: UNESP, 1995.
- MARTIN, G.J. *Ethnobotany. A method's manual*. People and Plants Conservation Manual, Manual Series, WWF/UNESCO, New York: Chapman & Hall, 1995. p. 268.
- PRANCE, G.T.; CHADWICK, D.J.; MARSH, J. (ed.). *Ethnobotany and the search for new drugs*. CIBA Foundation Symposium 185, New York: John Wiley, 1994. p. 280.
- REID, W.V.; LAIRD, S.A.; GÁMEZ R.; SITTENFELD, A.; JANZEN, D.H.; GOLLIN, M.A.; JUMA, C. A new lease on life. In: REID, W.V.; LAIRD, S.A.; MEYER, C.A.; GÁMEZ, R.; SITTENFELD, A.; JANZEN, D.H.; GOLLIN, M.A.; JUMA, C. *Biodiversity prospecting: using genetic resources for sustainable development*. Baltimore: World Resources Institute, 1993. cap. 1, p. 1-52.

ABORDAGENS BIOTECNOLÓGICAS PARA A OBTENÇÃO DE SUBSTÂNCIAS ATIVAS

AUTOR

Suzelei de Castro França

SUMÁRIO DO CAPÍTULO

1. Introdução
2. Micropropagação
3. Interação planta-planta (alelopatia)
4. Tecnologia de cultivo: práticas agroquímicas e de cultivo
5. Cultura de células e tecidos como fonte de compostos bioativos
6. Morfogênese: cultura organizada
7. Transfomação genética
8. Clonagem de genes codificadores de enzimas do metabolismo adaptativo (secudário) de plantas
9. Conclusões
10. Referências bibliográficas
11. Sugestões para leitura

1. INTRODUÇÃO

Plantas têm sido tradicionalmente usadas por populações de todos os continentes no controle de diversas doenças e pragas. O mercado atual de fitofármacos e fitoterápicos é da ordem de US\$ 9 a 11 bilhões/ano, sendo que mais de 13.000 plantas são mundialmente usadas como fármacos ou fonte de fármacos (Tyler, 1994).

Embora muitos compostos derivados de plantas medicinais possam ser sintetizados em laboratório, tal síntese é freqüentemente tão complexa que os rendimentos são baixos e a produção economicamente inviável. Por outro lado, alguns compostos também originados de plantas não podem ser ou nunca foram quimicamente sintetizados.

A disseminação do uso de determinadas partes de plantas consideradas medicinais tem resultado em intenso extrativismo, colocando em risco de extinção inúmeras espécies nativas, causando distúrbios ecológicos e o desaparecimento de germoplasmas valiosos, cujo potencial farmacológico e químico não pôde sequer ser estudado. A reprodução destas espécies é indispensável, inclusive para preservação da biodiversidade nativa.

A produção de herbáceas medicinais, com ciclo de vida curto, via de regra não oferece maiores dificuldades. No entanto, a propagação de arbóreas cujas cascas ou raízes contêm substâncias bioativas, freqüentemente se constitui em um desafio com limitações devido à germinação irregu-

lar, desenvolvimento lento de propágulos e não-enraizamento. Usualmente, esses compostos se acumulam em células fisiologicamente maduras ou tecidos especializados quando atingem sua fase estacionária de crescimento.

Quando o cultivo convencional é inviável, o uso de técnicas biotecnológicas se constitui em ferramenta bastante útil para a reprodução de exemplares com propriedades desejáveis, tais como resistência a pragas e a outras condições de estresse, alta produtividade e elevado rendimento em substâncias ativas de interesse.

A seleção de linhagens, variedades ou quimiotipos altamente produtores tem sido o método geralmente usado para obtenção de plantas com elevado teor de substâncias ativas. Essa estratégia tem sido bem sucedida devido à biodiversidade de espécies selvagens com grande variação no nível de metabólitos secundários de uma mesma espécie. Em muitos casos, a única fonte de matéria-prima para o fitoterápico é a planta selvagem. Por exemplo, *Psychotria ipecacuanha* (Brot.) Stokes (= *Cephaelis ipecacuanha* (Brot.) A. Rich.), família Rubiaceae, é uma planta cujo centro de origem é o Brasil e que produz os alcalóides isoquinolínicos emetina **1** e cefalina **2** (figura 1), com atividades amebicida, expectorante e emética. Essa espécie é nativa em regiões de sub-bosques na Amazônia e pouco se conhece a respeito de variações no conteúdo desses compostos na população nativa. Variabilidade na expressão do potencial genético, tipo de tecido da planta, fatores ambientais e período de colheita podem influenciar drasticamente o conteúdo dos metabólitos alvos. Recentemente, foram coletados germoplasmas de *Psychotria ipecacuanha* em 14 diferentes acessos e quantificou-se o teor de emetina nas raízes das plantas, sendo constatada uma grande variabilidade nos teores (tabela 1). Comparando esses resultados com os obtidos em cultivos *in vitro* com explantes de plantas de diferentes localidades, concluiu-se que as culturas são tão produtoras quanto a média das plantas analisadas (Pereira et al., 1998).

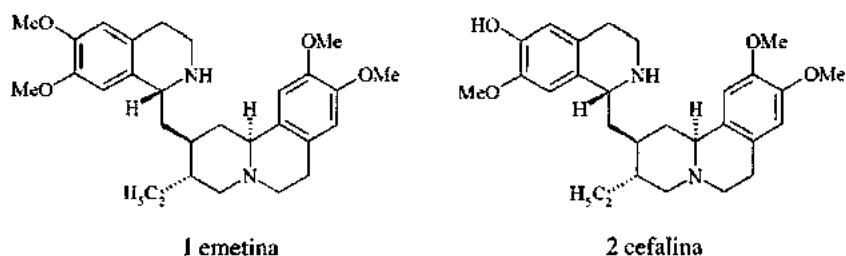


Figura 1. Estrutura de alcalóides isoquinolínicos produzidos por *Psychotria ipecacuanha* (= *Cephaelis ipecacuanha*)

TABELA 1
Variação dos teores de emetina em raízes de *Psychotria ipecacuanha*,
coletadas em diferentes localidades

Nº acesso	Origem (UF)	Teor de emetina (%)#
571.1-12	MT	1,53 fg
767.1-4	BA	2,24 b
594.1-137	MT	2,67 a
751.1-5	MG	2,36 b
610.1	RO	1,00 j
607.1-53	RJ	1,42 gh
760.1-3	ES	1,41 gh
595.1-115	MT	2,17 bc
596.1-76	MT	1,92 de
602.1-51	MT	1,30 hi
745.1-4	RJ	0,48 k
712.1-34	MT	1,98 cd
590.1-44	MT	1,72 ef
702.1-11	MT	1,19 ij
Cultura de tecido*	PA	1,70 f
Cultura de tecido**	MT	1,69 f

cultura de tecido* - Belém, PA

cultura de tecido** - Ribeirão Preto, SP

#Valores médios em teor de emetina, seguidos pelas mesmas letras, não diferem estatisticamente a nível de $p \leq 0,05$, de acordo com o teste de Turkey.

Desde o século XIX tem sido comprovado experimentalmente que inúmeras espécies de plantas podem se desenvolver mantendo-se suas raízes em soluções nutritivas contendo alguns poucos sais dissolvidos em água, captando energia do sol e tendo disponíveis oxigênio e gás carbônico do ar. Uma vez descoberto que as plantas podem crescer independentes do solo, o questionamento seguinte foi até que ponto cada órgão da planta depende dos demais para sua sobrevivência e desenvolvimento. Raízes, por exemplo, normalmente crescem no escuro e não participam da fotossíntese. Elas precisam obter os açúcares, produtos da fotossíntese nas folhas, por transferência via caule. Foi também descoberto que pontas de raízes necessitam de vitaminas, sintetizadas nas folhas e transportadas juntamente com os açúcares através do floema até as raízes, para sua elongação e desenvolvimento. Na década de 30, foi evidenciado o papel de substâncias orgânicas que, estando presentes em concentrações muito baixas, controlam os processos biológicos das células e tecidos, promovendo crescimento e desenvolvimento normais (White, 1939). Essas substâncias, os chamados reguladores de crescimento de plantas, cujo isolamento e caracterização química, nos anos 40, propiciou amplo avanço

nas técnicas que constituem a biotecnologia atual, podem ser agrupadas em duas classes: as auxinas, reguladoras dos processos de divisão celular e citodiferenciação, e as citocininas, reguladoras do crescimento celular entre outros processos. Algumas dessas substâncias ocorrem naturalmente, enquanto outras são apenas produzidas sinteticamente. Na metade do século XX ficou absolutamente claro que a presença desses reguladores de crescimento é indispensável para o desenvolvimento normal das plantas, uma vez que eles se translocam de um órgão para outro na planta e estão envolvidos no comportamento de partes isoladas das plantas. A partir do momento em que partes da planta (explantos) são fragmentadas, para que seu desenvolvimento possa ser estudado isoladamente, o fluxo de reguladores, nutrientes orgânicos e inorgânicos, e mesmo água de um órgão, tecido ou célula para outro está inevitavelmente interrompido. Para sustentar o explante, é necessário prover todos os nutrientes essenciais, fonte de carbono e nitrogênio e inclusive os reguladores de crescimento. O desenvolvimento de plantas é ainda modulado por influências ambientais, incluindo luminosidade, temperatura e umidade, bem como pelas interações planta-microrganismos e planta-planta.

A capacidade de regeneração total de plantas a partir de suas células ou tecidos tem sido extremamente valiosa para a biotecnologia vegetal. Cada célula contém a informação genética para todas as funções, incluindo a biosíntese de metabólitos secundários. Dessa forma, protoplastos (células individuais desprovidas de membrana celular) de vários explantes diferenciados podem ser regenerados formando plantas intactas. Essa habilidade de totipotência, peculiar às células somáticas vegetais, permite que elas se dividam, se diferenciem em plântulas e expressem capacidades bioquímicas especializadas quando cultivadas sob condições apropriadas.

2. MICROPROPAGAÇÃO

A regeneração de plântulas *in vitro* através de cultura de brotos, frequentemente utilizada para obtenção de clones que mantêm todas as características da planta-mãe, é uma técnica especialmente vantajosa para a preservação de genótipos produtores de compostos medicinais.

Eclipta alba (L.) Hassk., família Asteraceae, é uma espécie herbácea com flores brancas, de ciclo anual, nativa no Brasil e em outras regiões tropicais e subtropicais do mundo. Essa planta é uma fonte de compostos da classe dos cumestanos, sendo utilizada em formulações fitoterápicas prescritas para o tratamento de cirrose, hepatite infecciosa (Murphy et al., 1979), e ainda como colagoga e desobstruente em vários distúrbios hepáticos (Orning et al., 1980). Os cumestanos vedelolactona **3** e desmetilvedelolactona **4** (figura 2) isolados de extratos de *Eclipta alba* apresentam atividade anti-hepatotóxica (Wagner et al., 1986). Adicionalmente, testes *in vitro* mostraram que a vedelolactona

neutraliza a atividade mitotóxica e a letalidade provocadas por toxinas de veneno de cobra (Mors et al., 1989). Em função da comprovada atividade farmacológica de *Eclipta alba* desenvolveu-se (França et al., 1995) um protocolo para produção de vedelolactona em plantas micropropagadas a partir de segmentos nodais e foi investigado o efeito do tipo e das concentrações de citocininas sobre o número e altura das brotações produzidas após 60 dias de cultivo em meio de cultura MS (Murashige e Skoog, 1962). A resposta morfogênica dos explantes variou de acordo com o tipo e concentração dos reguladores utilizados (tabela 2) sendo que benzilaminopurina (BAP) foi mais eficiente na indução de brotações, enquanto que cinetina e 2-isopentiladenina (2-iP) favoreceram a sua elongação. O meio de cultura MS suplementado com 2,3 mM de cinetina promoveu o estabelecimento de um maior número de raízes, mas induziu a formação de calos na base dos explantes, o que é bastante

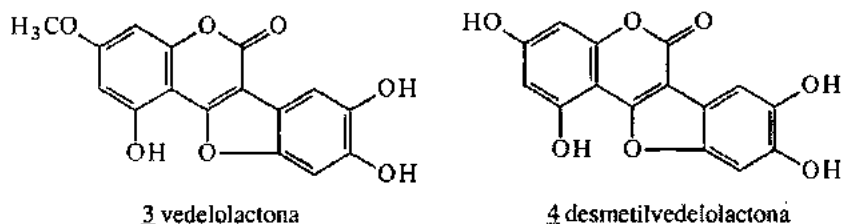


Figura 2. Estrutura dos cumestanos isolados de *Eclipta alba* (L.) Hassk.

TABELA 2
Efeito de citocininas na proliferação de calos e formação de raízes
e detecção de vedelolactona nas brotações

Citocinina	Concentração (µM)	* (%) enraizamento	Número de raízes	(%) calos	Deteção de vedelolactona
Controle	0,0	50	3 ± 0,4	0	-
Benzilaminopurina	2,2	10	2 ± 0,1	0	+
	4,4	50	2 ± 0,2	0	+
	13,3	100	1 ± 0,01	0	+
Cinetina	2,3	100	10 ± 0,9	80	+
	4,6	10	9 ± 0,9	40	+
	13,9	100	6 ± 0,4	20	+
2-iso-pentil-adenina	2,4	100	6 ± 0,5	0	+
	4,9	100	7 ± 0,4	0	+
	14,7	100	5 ± 0,4	0	+

* 2 repetições com 10 replicatas

(+) presença ou (-) ausência de vedelolactona

prejudicial porque eles podem obstruir a conexão entre partes aéreas e raízes (Thorpe et al., 1991). Considerando todas as características analisadas, o meio MS suplementado com 2,4 μ M de 2-iP foi eleito como o mais apropriado para a organogênese total. Análises por cromatografia em camada delgada permitiram a detecção dos cumestanos acumulados nas plântulas cultivadas nos diversos meios. A quantificação de vedelolactona e demetilvedelolactona em extratos de partes aéreas de plântulas de *Eclipta alba* foi realizada, posteriormente, por cromatografia líquida de alta eficiência. Plântulas cultivadas em meio 2,4 μ M de 2-iP apresentavam 0,05 mg/g e 0,19 mg/g de vedelolactona e desmetilvedelolactona, respectivamente.

3. INTERAÇÃO PLANTA-PLANTA (ALELOPATIA)

A interação entre plantas consorciadas é bastante explorada em cultivos convencionais, trazendo inúmeros benefícios do ponto de vista agrônomico, favorecendo a produtividade. O acúmulo de metabólitos secundários também pode ser afetado pela interação planta-planta, a qual usualmente estimula a liberação de substâncias aleloquímicas. Um exemplo característico desse tipo de interação química é fornecido pelas plantas que acumulam substâncias nematocidas que protegem suas vizinhas contra o ataque de nematóides. Por outro lado, a competição ambiental entre plantas é uma das causas de perdas nos rendimentos de várias culturas.

O co-cultivo *in vitro* de espécies medicinais poderia resultar em interações positivas, induzindo aumento na produção de metabólitos secundários bioativos. Várias publicações têm mostrado a competição entre *Eclipta alba* e outras espécies a ela associadas, tais como algumas ornamentais (Ban e Merkle, 1976), *Oryza sativa* L. (Jauzein, 1991) e *Pinus* (Fisher et al., 1993), influenciando negativamente o desenvolvimento dessas espécies. Todavia, os efeitos do co-cultivo *in vitro* com outras medicinais não haviam ainda sido investigados quando foram estabelecidas culturas de *Psychotria ipecacuanha* (= *Cephaelis ipecacuanha*) (ipeca) e *Eclipta alba* (Pereira et al., 1998). *Psychotria ipecacuanha* (= *Cephaelis ipecacuanha*) produz vários alcalóides isoquinolínicos, porém o valor medicinal dessa planta é atribuído à presença de emetina e cefalina, que são os responsáveis pelas suas atividades emética, amebicida, expectorante e diaforética. Plântulas de ambas as espécies, agrupadas em diferentes associações e densidades, foram co-cultivadas em meio MS semi-sólido suplementado com 0,4 mg/L de BAP e 0,1 mg/L de ANA (ácido naftaleno-acético) durante 40 dias. Ao final desse período, as plântulas foram analisadas quanto à capacidade proliferativa, biomassas fresca e seca, conteúdo de emetina, vedelolactona e desmetilvedelolactona. Os resultados mais expressivos foram: o consórcio de três plântulas de *Eclipta alba* acarretou aumento no teor da substância por planta (2,04 mg/g de demetilvedelolactona e

0,30 mg/g de vedelolactona); o co-cultivo de três plântulas de *Eclipta alba* associadas a uma de ipeca estimulou o triplo da produção de biomassa com rendimento quatro vezes maior em emetina (1,29 mg/g). Os resultados obtidos demonstraram que *Eclipta alba* possui admirável capacidade de absorção de nutrientes e adaptação às condições ambientais, além de comprovarem a importância do cultivo adensado de uma série de plantas de *Eclipta alba* para estimular a produção das substâncias ativas desta espécie. Foi também evidenciado que o consórcio de três plântulas de *Eclipta alba* com uma de ipeca induziu aumento no teor de emetina, muito provavelmente devido ao estresse nutricional imposto a esta última.

4. TECNOLOGIA DE CULTIVO: PRÁTICAS AGROQUÍMICAS E DE CULTIVO

Informações agrônômicas a respeito de plantas medicinais são essenciais para o estabelecimento de qualquer programa de fitoterapia sustentável. Existem poucos relatos de estudos sistemáticos rigorosos sobre como a nutrição de plantas, intensidade luminosa, disponibilidade de água e outros fatores relacionados ao cultivo influenciam a produção de compostos medicinais de plantas nativas brasileiras. A maioria dos trabalhos tem sido realizada com o escopo de avaliar métodos de cultivo propícios ao crescimento da planta não objetivando, no entanto, a otimização no teor da(s) substância(s) ativa(s). O estabelecimento de práticas de cultivo em casas de vegetação e no campo é indispensável para otimizar a produção de plantas medicinais e seus metabólitos bioativos.

Fatores ambientais, tal como a fertilidade do solo, desempenham importante papel na produção e acúmulo de substâncias com atividade medicinal. Alguns estudos têm demonstrado que o uso de fertilizantes pode aumentar a produção e o acúmulo de metabólitos em culturas de *Mentha arvensis* L. (Singh et al., 1988), de *Cymbopogon martini* (Roxb.) J. F. Watson (palma-rosa) (Rao et al., 1989) e de *Papaver* sp. (Jain, 1990a, b).

Foi investigado o efeito do tratamento com fertilizantes orgânicos e inorgânicos sobre características morfológicas e rendimento em triterpenos e fenóis totais, correlacionados à ação antiúlcera de *Maytenus aquifolium* Mart. Os resultados obtidos mostraram um aumento significativo na altura e número de brotações, com o conseqüente incremento em biomassa das partes aéreas onde se acumulam as substâncias ativas na planta. O conteúdo em triterpenos e fenóis totais não foi significativamente diferente dos controles, porém a produtividade por hectare foi aumentada em 20% (Pereira et al., 1995).

Experimentos de campo conduzidos com *Mikania glomerata* Spreng. (guaco) permitiram avaliar o efeito de vários nutrientes sobre a proporção de órgãos, biomassa de partes aéreas e conteúdo em cumarinas (substâncias ati-

vas com ação expectorante). A produção de cumarinas em folhas do guaco é cerca de sete vezes maior do que no caule. Os resultados obtidos evidenciaram que a proporção de folhas e caule das plantas é afetada pelo tratamento com fertilizantes. Desse modo, o rendimento em cumarinas pode ser triplicado com o uso de fertilizantes orgânicos, enquanto que os nutrientes inorgânicos favorecem um aumento da ordem de seis vezes em fitomassa (folhas e caule) (Pereira et al., 1998).

5. CULTURA DE CÉLULAS E TECIDOS COMO FONTE DE COMPOSTOS BIOATIVOS

As culturas de células vegetais apresentam uma variedade de características de crescimento e de produção de metabólitos secundários. Portanto, um fator muito importante a ser considerado na definição de uma estratégia eficiente para a produção de compostos bioativos é, sem dúvida alguma, a relação entre proliferação celular e formação de produto(s). Em suma, a escolha de uma estratégia de processo adequada à produção de um dado metabólito secundário dependerá da cinética de formação do produto *versus* a cinética de crescimento da cultura (Sahai e Knuth, 1985). Convém ressaltar que não há, pois, estratégia alguma definida como aplicável a todas culturas de células e produtos-alvo. Na maioria dos casos, a proliferação de células e a biossíntese de metabólitos são fenômenos separados, tendo cada qual suas condições favoráveis.

Uma abordagem típica para manipular a produção de metabólitos secundários nas culturas foi desenvolvida por Zenk et al. (1977), baseada na seleção de genótipos de plantas, com alta capacidade para formação de produtos, para iniciação das culturas. Esses pesquisadores cultivaram os exemplares mais produtivos em vários meios e desenvolveram meios otimizados para o crescimento e o acúmulo de metabólitos secundários. Esse tipo de estratégia permite, em muitos casos, o desenvolvimento de culturas de células que acumulam compostos em níveis mais elevados do que a planta da qual elas se originaram.

De acordo com Berlin (1988), para viabilizar uma estratégia coerente de iniciação de uma cultura é necessário:

- a) eleger uma planta matriz com alto teor do composto-alvo;
- b) estabelecer o maior número possível de linhagens a partir de diversas partes da planta;
- c) selecionar uma cultura que cresça bem e também produza de modo estável o composto de interesse;
- d) desenvolver a cultura em suspensão das linhagens celulares aparentemente valiosas e
- e) checar se as características superiores iniciais são mantidas nas condições de cultivo líquido necessário para posteriores explorações biotecnológicas.

É possível se iniciar uma cultura de células usando explantes de qualquer parte da planta intacta, ou seja, a partir de órgãos como raízes, folhas, caules e, ainda, a partir de células ou tecidos específicos (mesófilo, endosperma). A escolha do explante apropriado deve ser feita com base em alguns aspectos relevantes:

a) a planta-mãe doadora deve estar em excelente condição fitossanitária, ou seja, saudável, crescendo ativamente, livre de qualquer sinal de decadência ou doença;

b) o explante deve conter células vivas;

c) os tecidos jovens contêm maior proporção de células se dividindo ativamente sendo, portanto, mais adequados ao estabelecimento de calos e

d) o estado fisiológico da planta matriz influencia significativamente a resposta do explante ao processo de indução de calos.

O processo de desenvolvimento da cultura de células envolve, em geral, a quebra da organização daquele tecido da planta (lesão) e ruptura do crescimento ordenado, por tratamento dos tecidos lesionados com reguladores de crescimento, gerando calos nos quais o crescimento de células neoplásicas pode ocorrer. O crescimento descontrolado produz uma massa de calos na qual as células são genética, bioquímica e morfológicamente mais heterogêneas do que aquelas dos tecidos dos quais elas são derivadas (Rhodes e Robins, 1987).

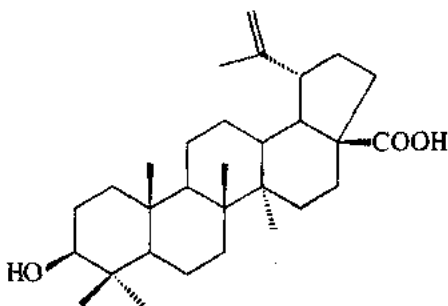
Um considerável esforço tem sido feito no intuito de se produzir medicamentos fitoterápicos a partir de plantas com substâncias ativas que tenham sido acumuladas em culturas de células ou tecidos de plantas. No entanto, são raros os processos economicamente viáveis devido à necessidade de otimização do rendimento dos compostos ativos que depende, em última instância, do entendimento dos mecanismos genéticos, fisiológicos e morfológicos de controle da biogênese e acúmulo dos compostos bioativos.

A cultura não organizada de células pode ser explorada para a produção de metabólitos secundários; no entanto, as células de calos representam um estágio fisiológico que, na melhor das hipóteses, pode ser transiente na planta intacta e é diferente da maioria dos estádios celulares da planta diferenciada. Assim, frequentemente o espectro de compostos produzidos é diferente daquele característico da planta. Como esse novo estágio de diferenciação da cultura vai afetar a repressão ou expressão de uma via metabólica distinta é absolutamente imprevisível, ele deve ser testado experimentalmente (Rhodes e Robins, 1987).

Existem inúmeros metabólitos cujo potencial uso farmacológico justifica um empenho no desenvolvimento de técnicas biotecnológicas de produção que permitam manipulações bioquímicas e genéticas das culturas para aumento no rendimento de tais compostos. Um exemplo ilustrativo é o do ácido betulínico (BA) 5 (figura 3), um triterpeno pentacíclico com esqueleto do tipo

lupano. Pesquisas desenvolvidas recentemente têm demonstrado que esse composto e alguns de seus derivados desempenham um papel relevante como potentes inibidores seletivos da replicação do vírus HIV tipo 1 (Mayaux et al., 1994; Kashiwada et al., 1996; Evers et al., 1996; Soler et al., 1996), como inibidores de tumores (Yasukawa et al., 1991; Pisha et al., 1995), como antimaláricos (Bringmann et al., 1997) e como agentes antiinflamatórios (Recio et al., 1995; Mukherjee et al., 1997). Essa substância está sendo atualmente utilizada em ensaios pré-clínicos para tratamento e prevenção de melanomas malignos (Pisha et al., 1995).

Recentemente foram estabelecidas várias linhagens de calos de *Tabernaemontana catharinensis* A. DC. (leiteirinha), família Apocynaceae, típica do cerrado brasileiro que, além de produzir alcalóides terpeno-indólicos com atividade tripanomicida (Pereira et al., 1997), também acumula ácido betulínico (Pereira et al., 1998). As culturas foram iniciadas através de indução de calos em segmentos de folhas cultivados em meio MS semi-sólido contendo 2,5 mg/L de ANA e 1,0 mg/L de BAP, sob condições de fotoperíodo (16 h/dia) e escuro. A seleção de linhagens celulares se processou com a manutenção dos calos em diferentes combinações de reguladores de crescimento e também sob diferentes condições de luminosidade. Em geral, calos cultivados sob fotoperíodo apresentaram-se friáveis, crescendo ativamente (elevado índice mitótico), enquanto que calos cultivados no escuro se mostraram mais compactos e bem menos proliferativos. O balanço de reguladores de crescimento também afetou a morfologia, o crescimento e a pigmentação dos calos. Culturas de células em suspensão foram similarmente estabelecidas. Após três a quatro subculturas regulares de 30 dias, as células foram coletadas, secas em estufa a 60 °C, extraídas com clorofórmio e, em seguida, com metanol. Componentes das frações dos extratos foram purificados por partição ácido-base,



5 ácido betulínico

Figura 3. Estrutura do triterpeno pentacíclico presente em *Tabernaemontana catharinensis* A. DC.

tendo sido os derivados triterpênicos de interesse separados na fração neutra, monitorados em cromatografia em camada delgada e quantificados por cromatografia líquida de alta eficiência. O ácido betulínico isolado foi identificado através de métodos físicos de determinação de estrutura: EM, ^1H e RMN ^{13}C , COSY e HMQC. Seus teores acumulados nos calos variaram entre 20×10^{-2} a 1,24 mg/g de peso seco de células. A estratégia de cultivo em dois estágios (meio de crescimento e meio de produção) favoreceu a produção do ácido betulínico com rendimento quatro vezes superior (1,24 mg/g) ao teor apresentado nas folhas da planta intacta (0,29 mg/g).

Um outro exemplo de planta produtora de metabólitos secundários com atividades biológicas úteis é *Pothomorphe umbellata* (L.) Miq., família Piperaceae, conhecida como pariparoba ou caapeba, cujos extratos são utilizados por populações da América do Sul no tratamento de disfunções do fígado e problemas inflamatórios (Barros et al., 1996).

Plantas desse gênero têm sido pouco estudadas quimicamente sabendo-se, no entanto, que produzem lignanas, neolignanas, flavonóides e alcalóides (Kijjoo et al., 1980; Rorig e Von Poser, 1991). Investigações fitoquímicas evidenciaram a presença de 4-nerolidilcatecol (4-NC) **6** nas raízes e folhas de *Pothomorphe umbellata e ainda o acúmulo de sesamina (lignana) **7** em folhas da planta adulta (Bastos et al., 1996) (figura 4). Ensaios realizados para detectar uma possível atividade antioxidante de extratos etanólicos de raízes de *Pothomorphe umbellata* mostraram alta atividade, quando comparada ao tocoferol, correlacionada à presença de 4-NC (Demarchelier et al., 1997).*

Culturas de calos (não-diferenciadas) e brotações (diferenciadas) foram estabelecidas no intuito de se investigar a correlação entre organogênese e habilidade de produção de metabólitos bioativos de *Pothomorphe umbellata*. Foram induzidos calos em segmentos de folhas axênicas, provenientes de plântulas micropropagadas, na presença dos reguladores de crescimento BAP e ANA.

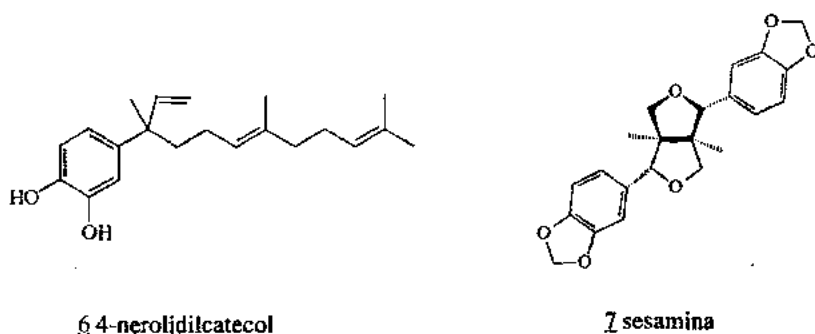


Figura 4. Substâncias isoladas de *Pothomorphe umbellata* (L.) Miq.

Calos liofilizados foram extraídos com diclorometano e esse extrato foi posteriormente fracionado em cartucho contendo Sephadex C-18 (fase reversa). O 4-nerolidilcatecol (4NC) foi quantificado na fração solúvel em metanol por cromatografia líquida de alta eficiência, com gradiente de eluição usando MeOH:H₂O como sistema solvente (Lourenço et al., 1998). Entre as células produtoras de 4-NC, selecionou-se uma linhagem com rendimento de 83,2 mg/g de peso seco. Plântulas micropropagadas (com 4 pares de folhas), provenientes da organogênese direta de folhas, também acumularam 4-NC.

Calos ou células em suspensão, resultantes da dediferenciação *in vitro* de tecidos de plantas, usualmente sofrem uma aparente perda de habilidade em acumular metabólitos secundários. Fatores distintos, tais como falha na expressão de genes específicos que controlam enzimas-chave de vias biossintéticas ou mesmo a não-disponibilidade de compartimentos para armazenagem de produtos, já foram apontados como responsáveis pelo acúmulo de cada metabólito ou série de metabólitos nas culturas de tecidos de plantas (Charlwood et al., 1990). Existem, no entanto, alguns exemplos em que a variação propicia o desenvolvimento de culturas com alto nível de atividade biossintética. É importante, pois, manipular essas variações morfológicas, bioquímicas e genéticas, selecionando continuamente a população celular para manter as propriedades desejadas das culturas.

6. MORFOGÊNESE: CULTURA ORGANIZADA

Quando alguma diferenciação morfológica é induzida nas culturas, ocorrendo formação de embriões, brotações ou raízes, o teor em metabólitos bioativos pode aumentar significativamente. Isso foi principalmente detectado na produção de alcalóides (Yoshikawa e Furuya, 1985), saponinas (Furuya et al., 1986) e terpenos (Charlwood e Moustou, 1988). Ao estudar o efeito da diferenciação de culturas de *Panax ginseng* C.A. Mey., família Araliaceae, sobre a produção de saponinas, Furuya et al. (1986) demonstraram que culturas de brotações e de raízes produziam respectivamente 3,5 e 4,9 vezes mais saponinas do que as culturas de calos. Resultados adicionais mostraram que as raízes regeneradas produziam 3 a 4 vezes mais saponinas do que as raízes da planta-mãe (0,4 %).

O crescimento contínuo de culturas de tecidos organizados resulta num sistema biológico bastante eficiente para a produção de metabólitos secundários, que são sintetizados nos diversos órgãos da planta intacta. Entretanto, as chances da cultura de órgãos ser usada industrialmente são reduzidas, devido ao crescimento lento e à relativa dificuldade de manipulação.

A transformação genética de células de plantas usando como vetor uma bactéria do solo (*Agrobacterium rhizogenes*) resulta na indução de raízes que possuem inúmeras ramificações laterais (meristemas apicais ra-

diculares múltiplos) e crescem muito rapidamente, as chamadas *hairy roots* (raízes capilares). Devido à transferência de Ti-DNA da bactéria para a planta, as raízes capilares são autotróficas em relação à produção de auxinas, ou seja, elas se desenvolvem sem a necessidade de suplementação exógena de auxinas.

O cultivo de raízes transformadas representou um grande progresso para a viabilização da produção de metabólitos secundários (Flores et al., 1987; Hamil et al., 1987; Signs e Flores, 1990), pois além de apresentarem estabilidade genética e bioquímica, essas raízes exibem a capacidade biossintética total das vias metabólicas específicas da raiz da planta (Flores e Curtis, 1992). As raízes cabeludas podem ser submetidas à fermentação e respondem a estímulos, tais como indutores biológicos (microorganismos) e não-biológicos (sais de metais pesados, polissacarídeos, etc.).

Culturas transformadas de espécies medicinais pertencentes às mais variadas famílias têm sido estabelecidas. Como exemplo, poder-se-ia citar *Physalis angulata* L., família Solanaceae, conhecida como camapu ou balãozinho, bastante utilizada no tratamento de inflamações do fígado, hepatite e malária. Plantas do gênero *Physalis* são especiais por elaborarem estruturas complexas, variantes de vitanolídeos simples, designadas como fisalinas (Gottlieb et al., 1987). Estes compostos são lactonas esteroidais C28 com esqueleto do tipo ergostano modificado, sendo 16,24-ciclo-13,14-secoesteróides (figura 5). Além de fisalinas, *Physalis angulata* acumula outros constituintes ativos como alcalóides tropânicos (Basey et al., 1992; Kubaabo et al., 1993). Cerca de doze fisalinas já foram isoladas de espécies japonesas e italianas, sendo que algumas delas demonstraram atividade citotóxica *in vitro* contra células tumorais e atividade antineoplásica *in vivo* (Kawai et al., 1992; Makino et al., 1995).

Objetivando a produção de fisalinas em culturas organizadas, foi estabelecido o cultivo *in vitro* de raízes adventícias geradas em segmentos de caules

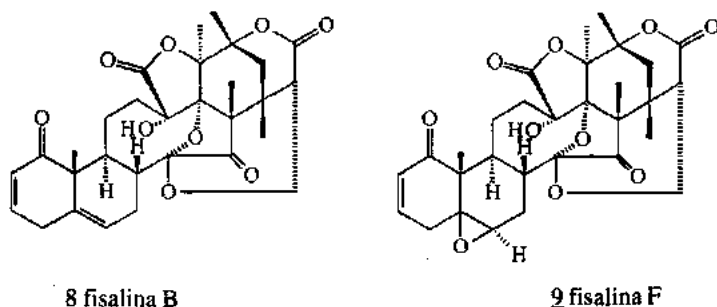


Figura 5. Estruturas de fisalinas isoladas de *Physalis angulata* L.

de plantas axênicas e também culturas de raízes transformadas com *Agrobacterium rhizogenes* LBA 9402 contendo o plasmídeo pMON9793. Estudos fitoquímicos do extrato clorofórmico de raízes transformadas conduziram ao isolamento de três fisalinas, duas das quais foram elucidadas estruturalmente através de espectrometria de ressonância magnética nuclear (^1H e ^{13}C RMN) e por comparação com dados de literatura como: fisalina B 8, e fisalina F 9 (figura 5), sendo que a fisalina I não foi ainda identificada (França et al., 1997).

As fisalinas B e F inibem o crescimento de vários tipos de células humanas cancerosas (leucemia). A fisalina F apresenta atividade mais acentuada contra leucemia mielóide aguda (KG-1) e leucemia linfóide B aguda (células B) do que a fisalina B. Do ponto de vista de correlação estrutura-atividade, os grupos ativos parecem ser a função epóxi para a fisalina F, e a dupla ligação, localizada nos carbonos 5 e 6, para a fisalina B, sendo a primeira muito mais ativa do que a segunda com relação aos efeitos antileucêmicos (Chiang et al., 1992).

Outro exemplo de uso da cultura de raízes transformadas como ferramenta para a indução de aumento na produção de metabólitos de interesse é a produção de vedolactona em *Eclipta alba* (L.) Hassk. Plantas axênicas de *Eclipta alba* infectadas nos segmentos nodais com *Agrobacterium rhizogenes* (LBA 9402) produziram raízes com características de espessura, ramificação e geotropismo totalmente diferentes das raízes de plantas não infectadas. Essas raízes cultivadas em meio líquido sem reguladores de crescimento, em regime de fotoperíodo (16 h/dia) ou no escuro, proliferaram muito rapidamente, com crescimento linear de aproximadamente 5 mm/dia, apresentando um grande número de ramificações laterais (novos meristemas apicais) e também um aumento do diâmetro devido à expansão e diferenciação celular. O peso fresco aumentou quatro vezes em apenas sete dias, enquanto que as raízes normais necessitam um mês para duplicação da biomassa. As análises por cromatografia em camada delgada da fração do extrato de raízes solúvel em acetato de etila mostraram que, sob as condições de cultivo, a capacidade biossintética para produzir cumestanos havia sido expressa nas raízes. Resultados das análises quantitativas comparativas do acúmulo de biomassa, rendimento e produtividade das

TABELA 3
Produção de vedolactona em cultura de raízes de *Eclipta alba* (L.) Hassk.

Explante	Meio de cultura	Tempo de cultura (dias)	Biomassa g/L	Teor de vedolactona (mg/L)	Produtividade (mg/L/dia)
Testemunha	MS	30	2,28	0,43	0,015
Raízes normais	MS*	30	6,48	3,88	0,130
Raízes transformadas sob fotoperíodo	MS	7	38,90	12,65	1,800
Raízes transformadas no escuro	MS	7	63,55	11,98	1,710

MS = MS basal

MS* = MS basal + 370 mg/L MgSO_4

culturas de raízes normais e clone transformado (E23) estão sumarizados na tabela 3 em que se evidencia o aumento de aproximadamente 100 vezes na produtividade de vedelolactona nas raízes transformadas (França et al., 1995).

7. TRANSFORMAÇÃO GENÉTICA

A aplicação da tecnologia de transformação genética em plantas medicinais visando ao aumento no conteúdo de compostos bioativos é uma realidade. As primeiras etapas nessa direção incluíram a purificação e caracterização de enzimas chaves das vias biossintéticas, o isolamento de clones de cDNA e a síntese de genes que regulam a biossíntese de metabólitos secundários. Genes que codificam enzimas reguladoras da síntese de alcalóides isoquinolínicos, terpeno-indólicos, tropânicos (Kutchan, 1995) e flavonóides (Forkmann, 1993) receberam atenção prioritária. A lista de genes que estão sendo caracterizados vem crescendo continuamente; dentre eles, os que codificam as enzimas fenilalanina amonialiase (PAL), chalcona-sintase (Kreuzaler et al., 1983), triptofano-descarboxilase (De Luca et al., 1989), estrictosidina-sintase (Kutchan et al., 1988; 1994) e hiosciamina 6 β -hidroxilase (Hashimoto et al., 1991).

A expressão de um transgene em uma planta medicinal pode alterar o perfil de metabólitos produzidos, de tal modo que uma maior quantidade de um composto ativo útil seja acumulada. Por exemplo, a produção de escopolamina (alcalóide tropânico com atividade no sistema nervoso central) em *Atropa belladonna* L., família Solanaceae, foi elevada com a introdução de cDNA codificando hiosciamina 6 β -hidroxilase, via transformação mediada por *Agrobacterium tumefaciens* ou *Agrobacterium rhizogenes*. As respectivas plantas transgênicas (Yun et al., 1992) e as raízes capilares (Hashimoto et al., 1993) continham níveis aumentados de escopolamina.

A transformação genética tem sido utilizada de duas formas: introduzindo-se genes que codificam novas atividades enzimáticas e reduzindo ou eliminando atividades enzimáticas com o uso de versões *anti-sense* dos genes que codificam essas atividades. Dessa forma, alguns pontos de bifurcação de vias metabólicas e etapas catabólicas podem ser bloqueados e o fluxo direcionado para a síntese de produtos de interesse.

A manipulação bioquímica ou genética do metabolismo de plantas pode ser realizada no sentido de produzir quantidades significativas de metabólitos de alto valor farmacêutico. No entanto, a resposta do metabolismo à transformação genética de enzimas específicas varia desde o mais obviamente previsível até o mais imprevisível em razão da existência de rotas metabólicas alternativas (plasticidade do metabolismo da planta) e do controle coordenado exercido por muitas enzimas em uma mesma via. Tais características tornam extremamente difícil qualquer prognóstico acerca do sucesso da estratégia adotada.

8. CLONAGEM DE GENES CODIFICADORES DE ENZIMAS DO METABOLISMO ADAPTATIVO (SECUNDÁRIO) DE PLANTAS

Abordagens biotecnológicas, tais como o estabelecimento de culturas de células e tecidos *in vitro*, têm se constituído em ferramentas biológicas para a obtenção de micromoléculas farmacologicamente ativas, sintetizadas em plantas. Conforme demonstrado nos itens anteriores, nesses processos tem-se buscado a otimização da produtividade, uma vez que o rendimento é, em muitos casos, baixo. Seleção de matrizes produtoras, desenvolvimento de culturas de órgãos e manipulações bioquímicas nessas culturas resultam em melhoria considerável no teor de produtos. Porém, inevitavelmente, é necessário um maior entendimento da regulação enzimática das vias de biossíntese de moléculas alvo para minimizar as causas do baixo nível de produção.

Em plantas, várias vias do metabolismo secundário não são constitutivamente expressas, mesmo em cultura, sugerindo a ocorrência de uma regulação coordenada no nível da via. A biossíntese de metabólitos secundários é frequentemente restrita a um tecido particular e ocorre num estágio específico de desenvolvimento, ou seja, as vias são temporariamente reguladas e a síntese de metabólitos secundários pode ser alterada por manipulação genética.

A resposta adaptativa da planta a uma situação ambiental nova requer a expressão de gene(s) em um tecido ou tipo de célula específico, num período também específico. A evolução de genes resulta na síntese de novos metabólitos secundários em plantas. Este processo é dinâmico e responsável pela grande maioria das diferentes funções gênicas entre genomas de plantas. O produto do gene, a nova enzima, será provavelmente uma variação de uma enzima já existente, que usa um substrato similar e catalisa a formação de um produto também similar (Pichersky, 1990).

A expressão diferencial de genes codificadores de enzimas chaves, reguladoras das principais vias do metabolismo secundário, ativados em decorrência de necessidades específicas de plantas, tais como resistência ao ataque de insetos (Arimura et al., 2000) e patógenos (Dixon et al., 1996), necessidade de suprimir o crescimento de plantas vizinhas, adaptação a períodos prolongados de seca (Nuccio et al., 1999) e resistência a alta salinidade (Zhang et al., 2000), pode ser caracterizada através de análises dos genes expressos (transcriptoma) nas diferentes condições a que a planta está sujeita e utilizada para produzir plantas transgênicas. O reconhecimento de genes que controlam a resposta a um determinado estresse aumenta as possibilidades de promover melhoramentos genéticos de plantas, com ganho em produtividade agrícola ou aumento no rendimento em produtos bioativos através de transformação genética direta (Dunwell et al., 2001).

Estudos de transcriptomas de espécies variadas incluem os seguintes procedimentos metodológicos básicos:

- construção de bibliotecas de cDNA de diferentes tecidos, sob condições de estresse biológico e/ou ambiental, a partir da extração do RNA total, purificação dos mRNAs e obtenção dos cDNAs por reação com a enzima transcriptase reversa;

- rastreamento das bibliotecas com sondas, heterólogas ou homólogas, marcadas com cromóforos detectores tipo digoxigenina (DIG – quimioluminescente), desenhadas a partir de seqüências conservadas de DNAs de enzimas alvo, relacionadas a genes conhecidos como codificadores de enzimas do metabolismo secundário, por exemplo de fenilpropanóides, isoprenóides ou outras macromoléculas bioativas. A hibridização com as sondas permite a detecção de clones de interesse, que são então amplificados através da reação da polimerase em cadeia (PCR), purificados e, posteriormente, identificados por seqüenciamento de nucleotídeos;

- comparação das seqüências obtidas com genes já identificados cujas informações estão depositadas em bancos de dados (ex. GenBank <http://ncbi.nlm.nih.gov>). Ferramentas da bioinformática como alinhamentos locais das seqüências expressas (BLAST – Altschul et al., 1999) permitem comparações com seqüências expressas (EST) ou com proteínas depositadas em bancos de dados, identificando níveis de similaridade e permitindo ainda a atribuição de funções putativas aos genes isolados. Outras ferramentas como CLUSTAL (Jeanmougin et al., 1998) permitem comparações múltiplas de seqüências de aminoácidos, evidenciando a diversidade existente entre os genes codificadores de proteínas que realizam funções semelhantes em diferentes plantas;

- clonagem do(s) gene(s) de interesse em vetores de expressão funcionais em células hospedeiras procarióticas (*Escherichia coli*; *Agrobacterium*) ou eucarióticas (*Saccharomyces*; *Picchia*). Existem várias construções de vetores (pQE32 em *Escherichia coli*; vetor binário pPHY8 em *Agrobacterium tumefaciens* LBA 4404; pYeDP60 e PYES2 em *Saccharomyces cerevisiae*; série pET em *Picchia*), sob o controle de promotores adequados para expressão em plantas, por exemplo, o promotor CaMV35S isolado do vírus do mosaico da couve-flor;

- comprovação bioquímica da funcionalidade do gene, realizada por avaliação da atividade enzimática da proteína (produto do gene) heteróloga expressa;

- o vetor recém-construído pode ser inserido, por exemplo, no genoma de cepas transgênicas de *Agrobacterium* e, posteriormente, ser integrado ao genoma de espécies medicinais, visando a manipulação genética da produção de moléculas farmacologicamente ativas.

Recentemente, seguindo a estratégia acima, foi estudada uma coleção de genes relacionados ao metabolismo secundário da cana-de-açúcar e foi investigado o padrão de expressão gênica de enzimas chaves reguladoras das principais vias biossintéticas ativas, nos diferentes tipos de tecidos e situa-

ções de estresse físico-químico e biológico a que estão submetidas plantas cultivadas em casas de vegetação, campo ou em cultivo *in vitro*. A estratégia de mineração dos dados do banco de dados de seqüências expressas de cana-de-açúcar, SUCEST, usando ferramentas de bioinformática, focalizou enzimas envolvidas na biossíntese de isoprenóides e fenilpropanóides que, comprovadamente, desempenham um papel na resposta de plantas a variações ambientais. Foram identificados e caracterizados genes que codificam enzimas chaves para a síntese de terpenóides, como a sesquiterpeno-ciclastase; chalcona-sintase para a síntese de flavonóides; a isoflavona-sintase envolvida na biossíntese de isoflavonóides, que desempenham importante papel na defesa de plantas e nodulação de raízes; as isoflavona-redutases – enzimas chaves para a síntese de fenilpropanóides fitoalexinas, bem como enzimas relacionadas à síntese de precursores de lignina, como a enzima ácido caféico- O- metiltransferase. A expressão diferencial na situação de estresse biológico, causado por bactérias como *Herbaspirillum rubri* e *Acetobacter diazotrophicans*, também foi avaliada, tendo sido constatada a indução da expressão da chalcona-sintase em plântulas infectadas com esses agentes, sugerindo a ativação da via de flavonóides em resposta a este estresse biológico. Esses resultados demonstraram que as vias do metabolismo de isopropanóides e de fenilpropanóides em cana-de-açúcar são ativadas de acordo com o estágio de desenvolvimento, especificidade de tecidos e em resposta a situações de estresse (França et al., 2001).

Progressos recentes nas estratégias de engenharia metabólica de plantas foram revisados por Lessard et al., (2002). Convém ressaltar que a crescente disponibilidade de seqüências de genomas de plantas e também de vários projetos de seqüências expressas (EST) torna a estratégia acima cada vez mais exequível. No entanto, é necessário ampliar os dados sobre plantas medicinais, sobretudo as nativas, já que essas sintetizam uma diversidade enorme de moléculas bioativas a ser explorada.

9. CONCLUSÕES

Plantas medicinais têm sido fonte de medicamentos por vários séculos; no entanto, doenças como a tuberculose, malária e cólera, que eram controladas com relativa facilidade estão, na atualidade, desenvolvendo resistência ao arsenal dos fármacos existentes. Novos e velhos distúrbios, para os quais existe um número limitado de medicamentos, como a AIDS e a malária estão se disseminando. Para fazer frente a essas ameaças, a pesquisa de novos fármacos originários de produtos naturais está se expandindo e o percentual de novos produtos de plantas consumidos na forma de fitoterápicos ou suplementos alimentares aumenta ano após ano.

As tecnologias de cultivo de células com o uso de indutores biológicos

e químicos têm se constituído em novas ferramentas para a otimização de níveis de metabólitos farmacologicamente ativos. Culturas organizadas, mais estáveis geneticamente, estão sendo utilizadas em estudos enzimáticos. Pesquisadores estão realizando intensos esforços no intuito de elucidar as vias biossintéticas de diversas classes de compostos ativos, esclarecendo sua regulação enzimática e o controle exercido por famílias de genes.

As interações planta-planta e planta-microrganismos estão sendo exploradas, inclusive para a transferência de genes de interesse, viabilizando, do ponto de vista econômico, a produção de metabólitos secundários.

Na ciência moderna, o uso da manipulação de plantas resulta em alternativa eficaz para incrementar a produção de compostos valiosos no desenvolvimento de novos medicamentos. Um progresso significativo tem sido alcançado com a combinação dos métodos químicos e de cultura de tecidos para a modificação de estruturas em formas mais ativas e menos tóxicas, via biotransformação.

O planejamento racional de um programa de engenharia genética requer a identificação dos genes diretamente responsáveis ou mais associados às limitações ou gargalos no fluxo metabólico, ou seja, os genes codificadores das enzimas chaves das vias metabólicas. A manipulação de uma via metabólica requer a disponibilidade do gene certo, no lugar certo, com nível adequado de expressão, além da conexão correta com o metabolismo primário.

Várias técnicas estão disponíveis para identificação e caracterização de genes diferencialmente expressos e o aproveitamento das informações da genética molecular constitui as bases para novas construções de vetores passíveis de introdução de mais de um gene e capazes de modificar rotas metabólicas favorecendo a síntese de moléculas bioativas complexas.

10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALTSCHUL, S.F.; GISH, W.; MILLER, W.; MYERS, E.W.; LIPMAND, J. Basic local alignment search tool. *Bioinformatics*, v.15, p.862-863, 1999.
- ARIMURA, G.I.; TASHIRO, K.; KUHARA, S.; NISHIOKA, T.; OZAWA, R.; TAKABAYASHI, J. Gene responses in bean leaves induced by herbivory and by herbivore-induced volatiles. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, v. 277, p. 305-310, 2000.
- BAN, G.; MERKLE, G. Weed control in pine seedling nursery (*Eclipta alba*, *Eleusine indica* and *Amaranthus*). *Proc. South Science Soc.* v. 29, p. 258-261, 1976.
- BARROS, S.B.M.; TEIXEIRA, D.S.; AZNAR, A.E.; MOREIRA Jr, J.A.; ISHII, I.; FREITAS, P.C.D. Antioxidant activity of ethanolic extracts of *Pothomorphe umbellata* L.Miq.(Pariparoba). *Ciência e Cultura*, v. 48, p. 114-116, 1996.
- BASEY K.; MCGAW B.A.; WOOLLEY J.G. Phygrine, an alkaloid from *Physalis* species. *Phytochemistry*, v. 31, n. 12, p. 4173, 1992.
- BASTOS, W.L.; CAVALHEIRO, A.J.; FURLAN, M.; LOURENÇO, M.V.; JANUÁRIO, A.H.; FRANÇA, S.C.; BENEVIDES, P.J.C.; LATORRE, L.R.; KATO, M.J.

- Biosynthetic studies in *Pothomorphe umbellata*. In: ANNUAL MEETING OF THE AMERICAN SOCIETY OF PHARMACOGNOSY. 37, Abstracts. Santa Cruz: University of California, 1996.
- BERLIN, J. Formation of secondary metabolites in cultured plant cells and its impact on pharmacy. In: BAJAJ, Y.P.S. (ed.). *Biotechnology in agriculture and forestry*. 4, Medicinal and Aromatic Plants I. Heidelberg: Springer, 1988. p. 37-59.
- BRINGMANN, G.; SAEB, W.; ASSI, L.A.; FRANCOIS, G.; SANKARANARAYANAN, A.S.; PETERS, K.; PETERS, E.M. Betulinic acid: isolation from *Triphyophyllum peltatum* and *Ancistrocladus heyneanus*, antimalarial activity, and crystal structure of benzyl ester. *Planta Med.*, v. 63, p. 255-257, 1997.
- CHARLWOOD B. V.; MOUSTOU C. Essential oil accumulation in shoot-proliferation cultures of *Pelargonium* spp. In: ROBINS R. J.; RHODES M. J. C. (ed.). *Manipulating secondary metabolism in culture*. Cambridge: Cambridge University, 1988. p. 187-194.
- CHIANG, H.C.; JAW, S.M.; CHEN, P.M. Inhibitory effects of physalin B and physalin F on various human leukemia cells in vitro. *Anticancer Res.*, v. 12, p. 1155, 1992.
- DE LUCA, V.; MARINEAU, C.; BRISSON, N. Molecular cloning and analysis of cDNA encoding a plant tryptophan decarboxylase: comparison with animal DOPA decarboxylases. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, v. 86, p. 2582-2586, 1989.
- DESMARCHELIER, C.; BARROS, S.; REPETTO, M.; LATORRE, L.R.; KATO, M.; COUSSIO, J.; CICCIA, G. 4-Nerolidylcatechol from *Pothomorphe* spp. Scavenges Peroxyl Radicals and Inhibits Fe (II)-Dependent DNA Damage. *Planta Med.*, v. 63, p. 561-563, 1997.
- DIXON, R.A. Metabolic engineering: prospects for crop improvement through the genetic manipulation of phenylpropanoid biosynthesis and defense response - a review. *Gene*, v.178, p.61-71, 1996.
- DUNWELL, J.M.; MOYA-LEÓN, M.A.; HERRERA, R. Transcriptome analysis and crop improvement: a review. *Biol. Res.*, v.34, p.153-164, 2001.
- EVERS, M.; POUJADE, C.; SOLER, F.; RIBEILL, Y.; JAMES, C.; LELIEVRE, Y. Betulinic acid derivatives: a new class of human immunodeficiency virus type 1 specific inhibitors with a new mode of action. *J. Med. Chem.*, v. 39, p. 1056-1068, 1996.
- FISHER, A. J.; LAZANO, K.; RAMIRES, A.; SANINT, L.R. Yield loss prediction for integrated weed management in directed seeded rice. *Intern. Pest. Manag.*, v. 39, p. 175-180, 1993.
- FLORES, H. E.; CURTIS, W. Approaches to understanding and manipulating the biosynthetic potential of plant roots. *Ann. NY Acad. Sci.*, v. 665, p. 188-209, 1992.
- FLORES, H. E.; HOY, M. W.; PICKARD, J. J. Secondary metabolites from root cultures. *Trends Biotech.*, v. 5, p. 64-68, 1987.
- FORKMANN G. Genetics of flavonoids. In: HARBORNE, J.B. (ed.). *The flavonoids: advances in research since 1986*. London: Chapman and Hall, 1993. p. 538-564.
- FRANÇA, S.C.; BERTONI, B.W.; PEREIRA, A.M.S. Antihepatotoxic agent in micropropagated plantlets of *Eclipta alba*. *Plant, Cell Tissue & Organ Culture*, v. 40, p. 297-299, 1995.
- FRANÇA, S.C.; PEREIRA, A.M.S. Espinheira-santa: Do estudo à viabilização de um fitoterápico brasileiro contra úlcera gástrica. *Revista Racine*, v. 7, n. 40, p. 67-69, 1997.

- FRANÇA, S.C.; ROBERTO, P.G.; MARINS, M.A.; PUGA, R.D.; RODRIGUES, A.; PEREIRA, J.O. Biosynthesis of secondary metabolites in sugarcane. *Genetic and Molecular Biology*, v.24, p. 243-250, 2001.
- FURUYA, T.; YOSHIKAWA, T.; USHIYAMA, K.; ODA, H. Formation of plantlets from callus cultures of ginseng (*Panax ginseng*). *Experientia*, v. 42, p. 193-194, 1986.
- GOTTLIEB, R.; KAPLAN, M.A.C.; BORIN, M.R.M. *Biodiversidade um enfoque químico-biológico*. Rio de Janeiro: UFRJ, 1996. p. 12.
- GOTTLIEB, H.E.; SINHA, M.C.S.C.; BAGGHI, A.; ALI, A.; RAY, A.B. Withaminimin, a withanolide from *Physalis minima*. *Phytochemistry*, v. 26, n. 6, p. 1801, 1987.
- HAMIL, J. D.; PARR, A. J.; RHODES, M. J. C.; ROBINS R. J.; WALTON, N. J. New routes to plant secondary products. *Biol. Technol.*, v. 5, p. 800-804, 1987.
- HASHIMOTO, T.; HAYASHI, A.; AMANO, Y.; KOHNO, J.; IWANARI, H.; USUDA, S.; YAMADA, Y. Hyoscyamine 6 β -hydroxylase, an enzyme involved in tropane alkaloid biosynthesis, is localized at the pericycle of the root. *J. Biol. Chem.*, v. 266, p. 4648-4653, 1991.
- HASHIMOTO, T.; YUN, D.-J.; YAMADA, Y. Production of tropane alkaloid in genetically engineered root cultures. *Phytochemistry*, v. 32, p. 713-718, 1993.
- JAIN, P.M. Effect of phosphorus and potassium on yield of opium poppy. *Indian J. Agron.*, v. 35, p. 238-239, 1990a.
- JAIN, P.M. Effect of split application of nitrogen on opium poppy. *Indian J. Agron.*, v. 35, p. 240-242, 1990b.
- JAUZEIN, P. *Eclipta prostrata* (L.) a weed of rice fields in the Camargue. *Monde-des-Plantes*, v. 86, p. 15-16, 1991.
- JEANMOUGIN, F.; THOMPSON, J.D.; GOUY, M.; HIGGINS, D.G.; GIBSON, T.J. Multiple sequence alignment with Clustal X. *Trends Biochem. Sci.*, v. 23, p. 403-405, 1998.
- KASHIWADA, Y.; HASHIMOTO, F.; COSENTINO, L.M.; CHEN, C.H.; GARRETT, P.E.; LEE, K.H. Betulinic acid and dihydrobetulinic acid derivatives a potent anti-HIV agents. *J. Med. Chem.*, v. 39, p. 1016-1017, 1996.
- KAWAI, M.; MATSUURA, T.; KYUNO, S.; MATSUKI, H.; TAKENAKA, M.; TAKAYUKI, K.; BUTSUGAN, Y.; SAITO, K. A new physalin from *Physalis alkekengi*: structure of Physalins L. *Phytochemistry*, v. 26, n. 12, p. 3313, 1987.
- KAWAI, M.; OGURA, T.; MAKINO, B.; MATSUMOTO, A.; YAMAMURA, H.; BUTSUGAN, Y.; HAYASHI, M. Physalins N and O from *Physalis alkekengi*. *Phytochemistry*, v. 31, n. 12, p. 4299, 1992.
- KIJJOA, A.; GIESBRECHT, A.M.; AKISUE, M.K.; GOTTLIEB, O.R.; GOTTLIEB H.E. 4-Nerolidylcatechol from *Pothomorphe umbellata*. *Planta Med.*, v. 39, p. 85-87, 1980.
- KREUZALER, F.; RAGG, H.; FAUTZ, E.; KUHN, D.N.; HAHNBROCK, K. UV-indication of chalcone synthase mRNA in cell suspension cultures of *Petroselinum hortense*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, v. 80, p. 2591-2593, 1983.
- KUBUABO, C.; ROLLMANN, B.; TILQUIN, B. Analysis of alkaloids from *Physalis peruviana* by capillary GC, Capillary GC-MS, and GC-FTIR. *Planta Med.*, v. 59, p. 161, 1993.
- KUTCHAN, T.M. Alkaloid Biosynthesis – The basis for metabolic engineering of medicinal plants. *The Plant Cell*, v. 7, p. 1059-1070, 1995.
- KUTCHAN, T.M. Molecular genetic techniques applied to the analysis of enzymes

- of alkaloid biosynthesis. In: ELLIS, B.E.; KUROKI, G.W.; STAFFORD, H.A. (ed.). *Recent advances in phytochemistry*, v. 28: Genetic Engineering of Plant Secondary Metabolism. New York: Plenum, 1994. p 35-59.
- KUTCHAN, T.M.; HAMPP, N.; LOTTSPEICH, F.; BEYREITHER, K.; ZENK, M.H. The cDNA clone for strictosidine synthase from *Rauvolfia serpentina*: DNA sequence determination and expression in *Escherichia coli*. *FEBS Lett.*, v. 257, p. 40-44, 1988.
- LESSARD, P.A.; KULAVEERASINGAM, H.; YORK, G.M.; STRONG, A.; SINSKEY, A.J. Manipulating gene expression for the metabolic engineering of plants. *Metab. Eng.*, v. 4, p. 67-79, 2002.
- LOURENÇO, M.V.; PEREIRA, A.M.S.; VILEGAS, W.; FRANÇA, S.C. Callus Culture of *Dimorphandra mollis* Benth (Faveiro). *Fitoterapia* (In press.).
- MAKINO, B.; KAWAI, M.; OGURA, T.; NAKANISHI, M. Structural revision of Physalin H isolated from *Physalis angulata*. *J. Nat. Prod.*, v. 58, n. 11, p. 1668, 1995.
- MAYAUX, J.F.; BOUSSEAU, A.; PAUWELS, R.; HUET, T.; HENIN, Y.; DEREU, N.; EVERS, M.; SOLER, F.; POUJADE, C.; DE CLERCQ, E. Triterpene derivatives that block entry of human immunodeficiency virus type 1 into cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, v. 91, p. 3564-3568, 1994.
- MORS, W.B.; NASCIMENTO, M.C.; PARENTE, J.P.; SILVA, M.H.; MELO, P.A.; SUAREZ-KURTZ, G. Neutralization of lethal and myotoxic activities of South American rattlesnakes venom by extracts and constituents of the plant *Eclipta prostrata* (Asteraceae). *Toxicon*, v. 27, p. 1003-1009, 1989.
- MUKHERJEE, P.K.; SAHA, K.; DAS, J.; PAL, M.; SAHA, B.P. Studies on the anti-inflammatory activity of rhizomes of *Nelumbo nucifera*. *Planta Med.*, v. 63, p. 367-369, 1997.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.*, v. 15, p. 473-497, 1962.
- MURPHY, R.C.; HAMMARSTROM, S.; SAMUELSSON, B. Leukotriene C: a slow-reacting substance from murine mastocytoma cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, v. 76, p. 4275-4279, 1979.
- NUCCIO, M.; RHODES, D.; MCNEIL, S.; HANSON, A. metabolic engineering of plants for osmotic stress resistance. *Curr. Opin. Plant Biol.*, v. 2, p. 103-114, 1999.
- ORNING, L.; HAMMARSTROM, S.; SAMUELSSON, B. Leukotriene D: a slow-reacting substance from rat basophilic leukemia cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, v. 77, p. 2014-2017, 1980.
- PEREIRA, A.M.S.; BERTONI, B.W.; MENEZES JR., A.; PEREIRA, P.S.; FRANÇA, S.C. Effect of soil pH on wedelolactone and demethylwedelolactone contents and biomass of field-grown *Eclipta alba*. *J. Herbs, Spices Med. Plants*, v.6, p.43-48, 1998.
- PEREIRA, P.S.; FRANÇA, S.C.; SAMPAIO, S.V.; DIAS, D.A. Indole Alkaloids from *Tabernaemontana catharinensis* A. DC. *Acta Horticulturae WOCMAP II Proceedings*, 1998.
- PEREIRA, A.M.S.; MENEZES Jr., A.; CÂMARA, F.L.A.; FRANÇA, S.C. Influence of fertilizer on coumarin content and biomass production in *Mikania glomerata* Sprengel. *J. Herbs, Spices Med. Plants*, v.6, p. 29-36, 1998.
- PEREIRA, A.M.S.; MENEZES Jr., A.; PEREIRA, P.S.; CERDEIRA, R.M.M.; FRANÇA, S.C.; VILEGAS, J.H.Y.; CORDEIRO, P.J.M.; LANÇAS, F.M. Effect of fer-

- tilization on morphologic characteristics and secondary metabolites of *Maytenus aquifolium* Mart. *J. Herbs, Spices Med. Plants*, v. 3, n. 2, p. 43-50, 1995.
- PICHERSKY, E. Nomad DNA—a model for movement and duplication of DNA sequences in plant genomes. *Plant Mol. Biol.*, v. 15, p. 437-448, 1990.
- PISHA, E.; CHAI, H.; LEE, I.S.; CHAGWEDERA, T.E.; FARNSWORTH, N.R.; CORDELL, G.A.; BEECHER, C.W.; FONG, H.H.; KINGHORN, A.D.; BROWN, D.M. Discovery of betulinic acid as a selective inhibitor of human melanoma that functions by induction of apoptosis. *Nat. Med.*, v. 1, n. 10, p. 1046-1051, 1995.
- RAO, E.V.S.P.; SINGH, M.; RAO, A.R.S.G.; NARAYANA, M.R. Response of palmarosa (*Cymbopogon martinii* (Roxb.) Wats. var. *motia*) to farmyard manure and nitrogen. *Indian J. Agron.*, v. 34, n. 3, p. 376-378, 1989.
- RECIO, M.C.; GINER, R.M.; MANEZ, S.; GUEHO, J.; JULIEN, H.R.; HOSTETTMANN, K.; RIOS, J.L. Investigation on the steroidal anti-inflammatory activity of triterpenoids from *Diospyros leucomelas*. *Planta Med.*, v. 61, p. 9-12, 1995.
- RHODES, M.J.C.; ROBINS, R.J. The use of plant cell cultures in studies of metabolism. In: *The Biochemistry of Plants*, 13. ed., New York: Academic, 1987. p. 65-121.
- RORIG, L.R.; VON POSER, G.L. Investigação fitoquímica em espécies de Piperaceae. *Rev. Bras. Farm.*, v. 72, p. 15-17, 1997.
- SAHAL, O.P.; KNUTH, M. The technology of phytoproduction in plant tissue culture and process economics. *Biotechnol. Prog.*, v. 1, p. 1-9, 1985.
- SIGNS, M.; FLORES, H. E. The biosynthetic potential of plant roots. *Bioessays*, v. 12, p. 7-13, 1990.
- SINGH, K.; SINGH, V.; RAM, P. Effect of farmyard manure and fertilizers on herb, oil and sucker yield of *Mentha arvensis* L. *Indian J. Agron.*, v. 33, n. 3, p. 287-289, 1988.
- SOLER, F.; POUJADE, C.; EVERS, M.; CARRY, J.C.; HENIN, Y. Betulinic acid derivatives: a new class of specific inhibitors of human immunodeficiency virus type 1 entry. *J. Med. Chem.*, v. 39, p. 1069-1083, 1996.
- THORPE, T.A.; HARRY, I.S.; KUMAR, P.P. Application of micropropagation to forestry. In: DEBERGH, P.C.; ZIMMERMAN, R.H. (ed.) *Micropropagation: Technology and Application*. Dordrecht: Kluwer Academic, 1991. p. 310-336.
- TYLER, V.E. *Herbs of choice*. New York: Haworth, 1994.
- WAGNER, H.; GEYER, B.; HIKINO, H.; RAO, G.S. Coumestans as the main active principles of the liver drugs *Eclipta alba* and *Wedelia calendulaeae*. *Planta Med.*, v. 5, p. 370-374, 1986.
- WHITE, P.R. Potentially unlimited growth of excised plant callus in an artificial nutrient. *Am. J. Bot.*, v. 26, p. 59-64, 1939.
- WINICOV, I. New molecular approaches to improving salt tolerance in crop plants. *Ann. Bot.*, v. 82, p. 703-710, 1998.
- WINK, M. Plant breeding: importance of plant secondary metabolites for protection against pathogen and herbivores. *Theor. Appl. Genet.*, v. 75, p. 225-233, 1988.
- YOSHIKAWA, T.; FURUYA, T. Morphinan alkaloid production by tissues differentiated from cultured cells of *Papaver somniferum*. *Planta Med.*, v. 51, p. 110-113, 1985.
- YASUKAWA, K.; TAKIDO, M.; MATSUMOTO, T.; TAKEUCHI, M.; NAKAGAWA, S. Sterol and triterpene derivatives from plants inhibit the effects of a tumor promoter, and sitosterol and betulinic acid inhibit tumor formation in mouse skin two-stage carcinogenesis. *Oncology*, v. 48, p. 72-76, 1991.

- YUN, D.-J.; HASHIMOTO, T.; YAMADA, Y. Metabolic engineering of medicinal plants: Transgenic *Atropa belladonna* with an improved alkaloid composition. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, v. 89, p. 11799-11803, 1992.
- ZENK, M.H.; EL SHAGI, H.; ARENS, H.; STOCKIGT, J.; WEILER, E.W.; DEUS, B. In: BARS W., REINHARD E., ZENK M. H. (ed.). *Plant tissue culture and its bio-technological application*. Berlin: Springer, 1977. p. 27- 47.
- ZHANG, J.; KLUEVA, N.; WANG, Z.; WU, R.; HO, T.; NGUYEN, H. Genetic engineering for abiotic stress resistance in crops plants. *In vitro Cell Dev. Biol. Plant*, v. 36, p. 108-114, 2000.

11. SUGESTÕES PARA LEITURA

- COLLIN, H.A.; EDWARDS, S. (ed.). *Plant cell culture*. Oxford: Bios Scientific, 1998. 158 p.
- DIXON, R.A.; GONZALES, R.A. (ed.). *Plant cell culture: a practical approach*. New York: Oxford University, 1994. 230 p.
- DRAPER, J.; SCOTT, R.; ARMITAGE, P.; WALDEN, R. *Plant genetic transformation and gene expression: a laboratory manual*. Oxford: Blackwell, 1988. 355 p.
- LINDSEY, K.; JONES, M.G.K. (ed.). *Biotechnologia vegetal agrícola*. Zaragoza: Acti-bia, 1992. 276 p.
- MABRY, T.J. (ed.). *Plant biotechnology: research bottlenecks for commercialization and beyond*. Austin: IC2 Institute, 1987. 203 p.
- TORRES, A.C.; CALDAS, L.S. (ed.). *Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas*. Brasília: EMBRAPA/CNPq, 1990. 427 p.

O USO DE PRODUTOS NATURAIS VEGETAIS COMO MATÉRIAS-PRIMAS VEGETAIS PARA A SÍNTESE E PLANEJAMENTO DE FÁRMACOS

AUTORES

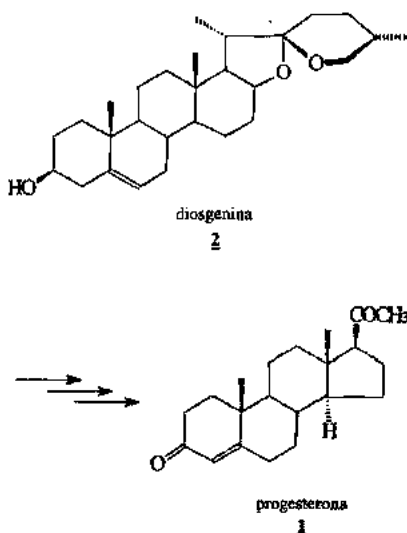
Eliezer J. Barreiro
Carlos A. M. Fraga
João Xavier de Araújo Jr.

SUMÁRIO DO CAPÍTULO

1. Introdução
2. O uso do safrol como matéria-prima em síntese
3. Síntese de análogos de prostaglandinas
4. Síntese de análogos de agentes anti-inflamatórios não-esteróides
5. Síntese de novos protótipos de inibidores seletivos de PGHS-2 a partir do safrol
6. Otimização do protótipo 94
7. Síntese de novos agentes anti-trombóticos a partir do safrol
8. Síntese de piperamidas naturais e análogos
9. Síntese de novos derivados N-acilidrazônicos e isômeros a partir do Safrol
10. Desenvolvimento de um novo protótipo de fármaco cardiotônico
11. Conclusões
12. Agradecimentos
13. Referências bibliográficas
14. Sugestões para leitura

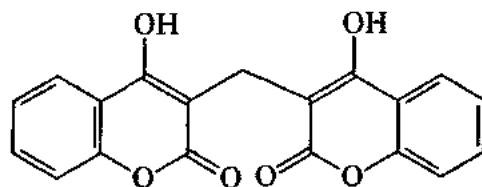
1. INTRODUÇÃO

O uso de produtos naturais como matéria-prima para a síntese de substâncias bioativas, especialmente fármacos, tem sido amplamente relatado ao longo do tempo. Um exemplo marcante é representado pelos trabalhos de Russell E. Marker sobre a síntese de hormônios esteróides, progesterona (1) a partir de saponinas isoladas de uma planta do altiplano mexicano, conhecida como *cabeza de negro* (*Dioscorea macrostachya* Benth.), que contém diosgenina (2) (Marker et al., 1947) (esquema 1). Este trabalho foi de capital importância para o desenvolvimento de esteróides e contribuiu significativamente para a descoberta subsequente da pílula contraceptiva feminina (Djerassi, 1970; Crabbé, 1979).



Esquema 1. Síntese da progesterona (1) a partir da diosgenina (2)

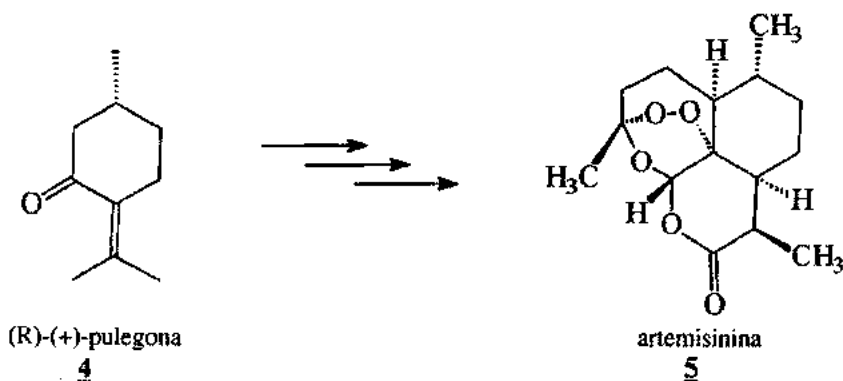
Inúmeras classes de diferentes produtos naturais têm sido empregadas como matéria-prima para a síntese de diferentes substâncias bioativas. Derivados 4-hidróxi-cumarínicos originaram o dicumarol (3), um anticoagulante que interfere na ação da vitamina K, descoberto pela Abbott e Lilly em 1945.



dicumarol

3

Vários derivados terpênicos (pulegona, 4) têm sido empregados como matéria-prima em síntese, como ilustrado no esquema 2, para a obtenção da artemisinina (5), derivado sesquiterpênico com importantes propriedades antimaláricas, como descreveram, recentemente, Avery e colaboradores (Avery et al., 1987 e 1992) (esquema 2).

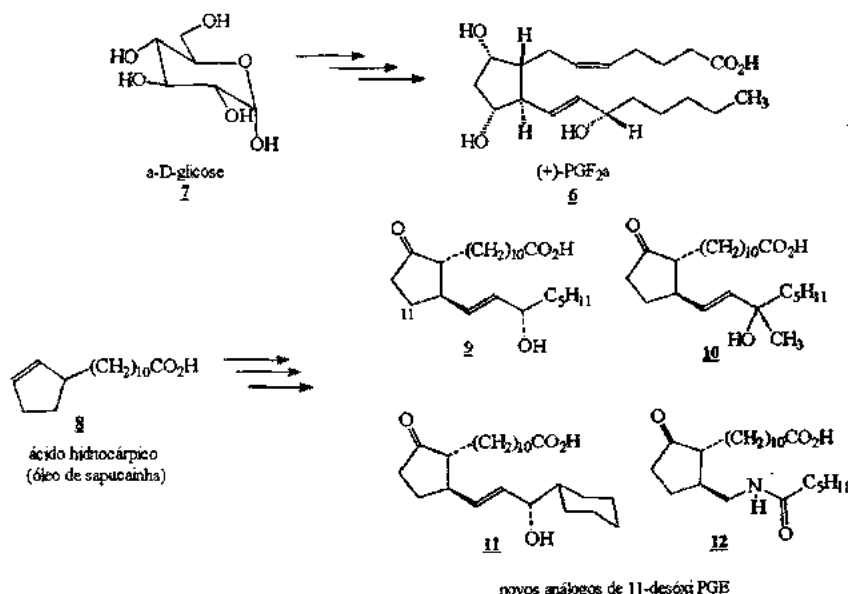


Esquema 2. Síntese da artemisinina (5) a partir da pulegona (4)

O emprego de carboidratos como *síntons** (Ferreira, 1995) na síntese de prostaglandinas enantiopuras tem diversos exemplos na literatura, especialmente na síntese de prostanóides modificados conforme ilustra a obtenção da (+)-PGF_{2α} (6) a partir da glicose (7) (Stork e Maldonado, 1971; Stork e Takahashi, 1977).

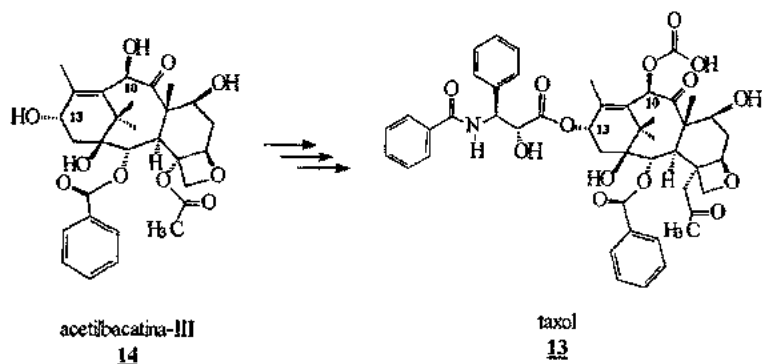
* *Síntons* são sub-unidades estruturais úteis na síntese de compostos mais complexos.

O ácido hidnocárpico (**8**), produto natural brasileiro abundante, principal componente químico do óleo de sapucainha (Barreiro e Gomes, 1983), foi empregado como matéria-prima na síntese estereosseletiva de diversos análogos homólogos de 11-desóxi-prostanóides (**9-12**) (Barreiro, 1987) (esquema 3).

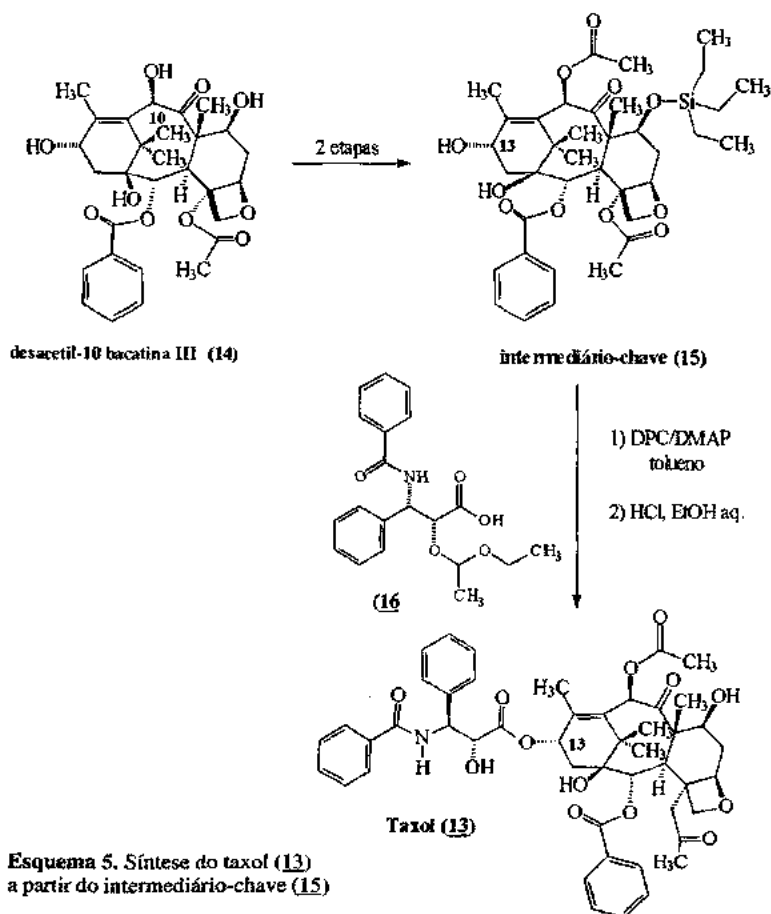


Esquema 3. Síntese de novos análogos de 11-desóxi-PGE (**6**) a partir do ácido hidnocárpico (**8**)

A síntese do paclitaxel (Taxol®, **13**), derivado taxóide identificado em *Taxus brevifolia* Nutt. (Wani et al., 1971), recentemente licenciado para uso terapêutico contra o câncer, foi realizada por Nicolaou e colaboradores (Nicolaou e Sorensen, 1996; Nicolaou e Guy, 1995; Nicolaou, Dai e Guy, 1994; Goodman e Walsh, 2001) a despeito desta substância natural possuir 11 centros quirais. Devido a baixa ocorrência natural do taxol (**13**) em *Taxus* sp., a síntese parcial ou hemi-síntese a partir de taxóide abundante, estruturalmente relacionado foi eficientemente realizada por Greene e colaboradores (Dennis, 1990) (esquema 4), empregando a desacetil-10 bacatina III (**14**), isolada de *Taxus baccata* L., como matéria-prima. Estes autores prepararam o derivado protegido em C-7 e C-10 do esqueleto taxano (**15**), e posterior esterificação da hidroxila em C-13, deste intermediário, com a cadeia ácida adequada (**16**), levando em 53% de rendimento global ao taxol (**13**) (esquema 5). O uso da desacetil-10 bacatina III (**14**) na hemi-síntese do taxol (**13**) representa um exemplo recente do uso de produtos naturais em síntese (Corrêa, 1995).



Esquema 4. Síntese do taxol (**13**) a partir da acetilbacatina III (**14**)



Esquema 5. Síntese do taxol (**13**) a partir do intermediário-chave (**15**)

2. O USO DO SAFROL COMO MATÉRIA-PRIMA EM SÍNTESE

Dentre os principais componentes de óleos voláteis brasileiros, o safrol (17) (figura 1), derivado alil-benzênico oxigenado, pode ser considerado como um dos de maior abundância, ocorrendo no óleo de sassafrás [*Ocotea odorifera* (Vell.) Rohwer (= *Ocotea pretiosa* Benth. et Hook. f.)] com abundância da ordem de 90%, obtido de diferentes espécies de canelas brasileiras (Lauráceas) (Rizzini e Mors, 1976) encontradas no sul do Brasil. Recentemente, foi identificado, em abundância em espécies de *Piper* (Piperáceas), particularmente em *Piper longum* L., *Piper auritum* Kunth e *Piper hispidinervum* C. DC., sendo explorado economicamente em Rondonia (Gupta et al, 1985; Chaves, 1994; Barreiro e Fraga, 1999; Costa, 2000; Mors, 2000;).

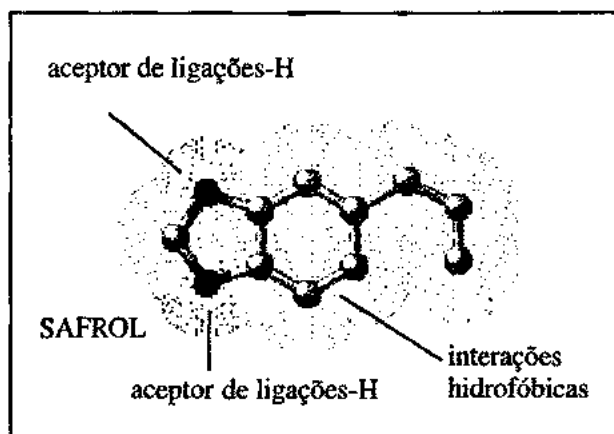
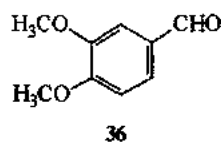
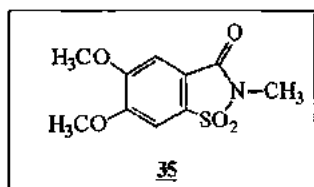
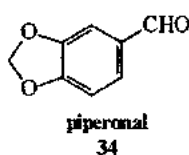


Figura 1. Representação 3D do safrol (17)

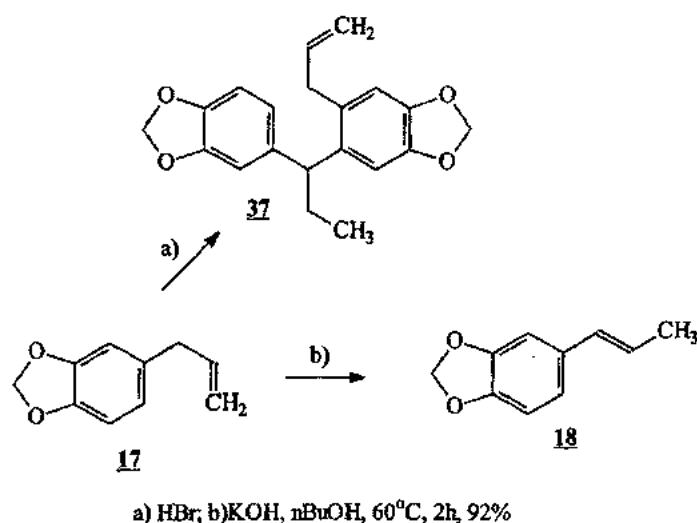
A reatividade química deste alil-benzeno natural tem sido largamente estudada, sendo tema de diversas dissertações e teses realizadas em diferentes programas de pós-graduação do País (Costa et al., 1983), pioneiramente estudada pelo saudoso Professor Roderick Barnes. Tais estudos resultaram no conhecimento da reatividade desse sistema, de tal maneira que todos os átomos de carbono dessa substância natural podem ser eficiente e regioselectivamente funcionalizados, conforme representado no esquema 6.

Vários dos derivados ilustrados no esquema 7 foram empregados como intermediários sintéticos para a construção de diversos sistemas heterocíclicos, possuindo a sub-unidade benzodioxila (Barreiro e Fraga, 1999; Costa, 2000).

A presença da unidade metilenodioxila introduz nesse alil-benzeno e em derivados estruturalmente relacionados uma reatividade química particular e característica. Comparando-se à reatividade do piperonal (34) a de aldeídos estruturalmente relacionados que possuem éteres catecólicos, pôde-se observar um comportamento químico particularmente distinto. Por exemplo: derivados da sacarina (35) podem ser obtidos em rendimentos adequados a partir do éter metílico da vanilina (36), enquanto que a partir do piperonal, empregando as mesmas condições reacionais não se logrou obter nenhuma substância isolável (Fraga et al., 1992). Outrossim, a isomerização de alil-benzenos funcionalizados catalisada por ácido fornece como produto, dímeros de acoplamento, o que exige rigoroso controle das condições experimentais utilizadas nesses processos (MacMillan et al., 1969).

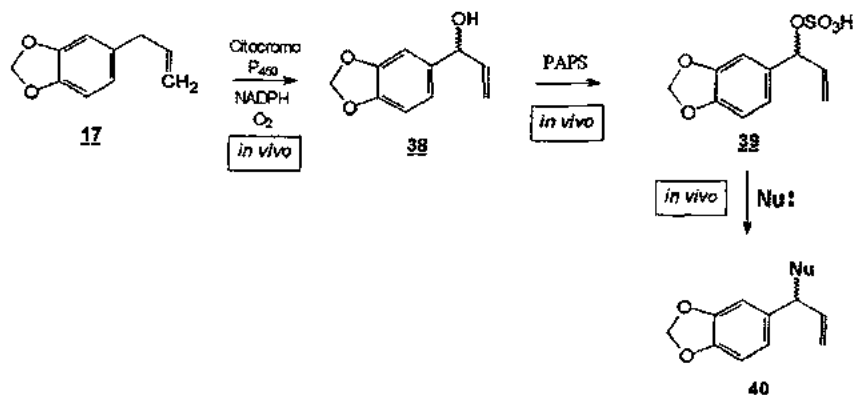


O isossafrol (18) pôde ser obtido a partir do safrol em rendimentos da ordem de 89% quando as condições ilustradas no esquema 8 foram empregadas (Coelho et al., 1983) sem que se detectasse a formação de produtos de acoplamento catalisados por base que levam à formação de derivados (37) (Barreira e Monte, 1995).



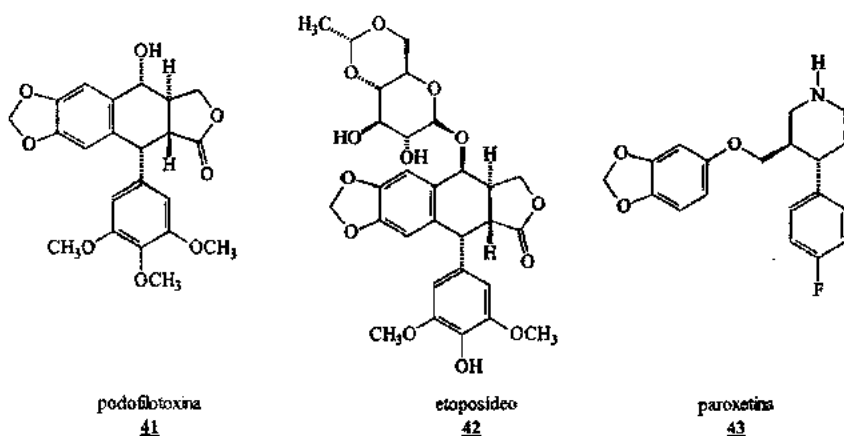
Esquema 8. Obtenção do isossafrol (**18**), a partir do safrol (**17**)

Durante algum tempo atribuiu-se as propriedades tóxicas do safrol à presença da ponte metilenodioxila (Michajda, 1994). Entretanto, estudos do metabolismo dessa substância natural evidenciaram que o grupo toxicofórico reside na unidade C-3 (Borchert et al., 1973a; Borchert et al., 1973b; Klungsoyr e Scheline, 1983; Randerath e Mabon, 1996), especialmente devido a sua fácil oxidação hepática por ação de enzimas microsossomais dependentes do Cit-P₄₅₀ seguida de sulfoconjugação do álcool alílico intermediário (**38**), levando à formação de espécies oxidadas reativas (e.g. **39**) frente a nucleófilos bioorgânicos (Borchert et al., 1973b) (e.g. **40**, esquema 9).



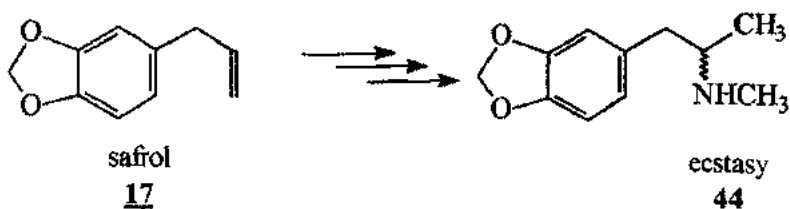
Esquema 9. Oxidação *in vivo* do safrol (**17**)

Como testemunho de sua inocuidade a unidade metilenodioxila, presente no safrol (17), pode ser identificada em diversas substâncias de interesse terapêutico como a podofilotoxina (41), derivado natural isolado de rizomas de *Podophyllum peltatum* L. e *Juniperus virginiana* L. (Kupchan et al., 1965; Sackett, 1993) precursor do derivado anti-cancêr etoposídeo (42) (Keller-Juslén et al., 1971). A paroxetina (43, Paxil®), desenvolvido pela SK Beecham, é um potente agente antidepressivo sintético de uso continuado, que ocupava o 15º lugar em prescrições nos Estados Unidos em 1999 e atua inibindo a recaptação de serotonina, também apresenta em sua estrutura a unidade metilenodioxila (Dechant e Clissolt, 1991).



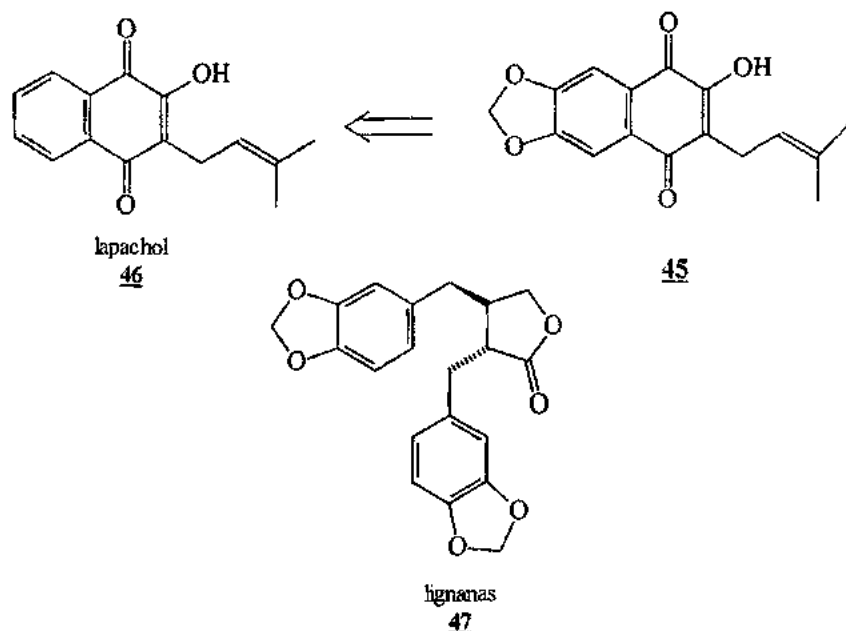
Esquema 10. Presença da unidade metilenodioxila em fármacos (41), (42) e (43)

Recentemente, o safrol (17) foi empregado como matéria-prima para a síntese do alucinógeno 3,4-metileno dióxi-metanfetamina (MDMA) (*Ecstasy*, 44), estruturalmente relacionado à classe das feniletilaminas endógenas (French, 1995; Mardel, 1995) (esquema 11).

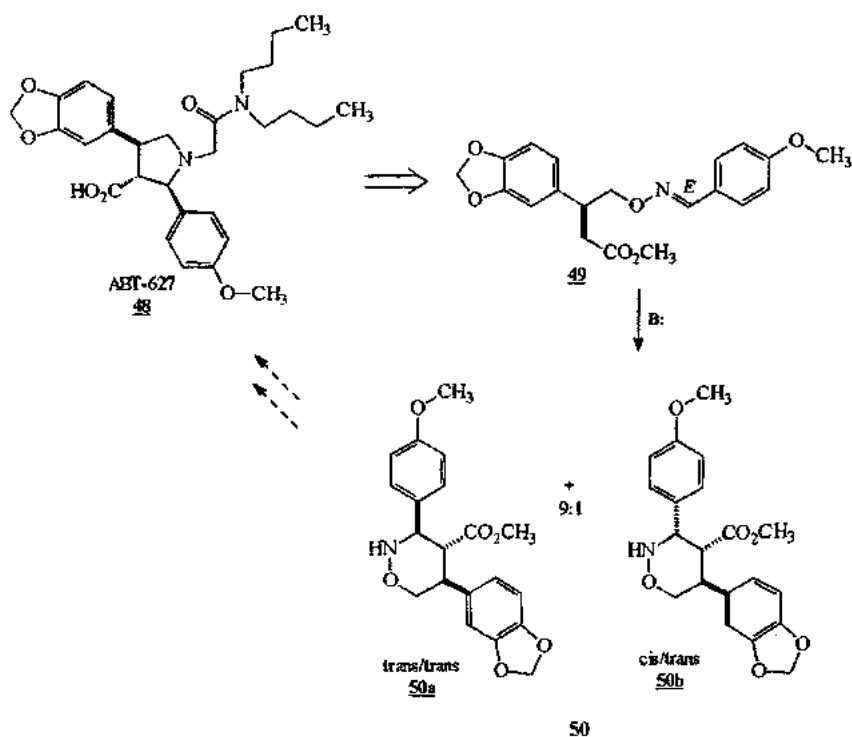


Esquema 11. Obtenção do *ecstasy* (44), a partir do safrol (17)

O análogo (45) do lapachol (46) também pôde ser sintetizado a partir do safrol (17) (Costa e Costa, 1991), assim como lignanas benzofurânicas (*e.g.* 47) (Costa, 2000).



A presença da unidade benzodioxola ocorre também no derivado ABT-627 (48) (Wittenberger e McLaughlin, 1999) recentemente descrito por pesquisadores dos laboratórios Abbott como potente antagonista de receptores de endotelina (Luscher e Barton, 2000). A síntese deste novo composto (50) explorou como etapa-chave a ciclização base-catalisada de um éter de *E*-oxima (49), que forneceu como produto, em rendimento de 97%, a mistura 9:1 dos derivados 1,2-oxazínicos (50a e 50b), com o diastereoisômero de configuração relativa *trans-trans* (50a) majoritário (Wittenberger e McLaughlin, 1999) (esquema 12).

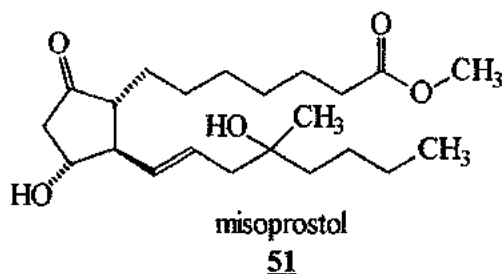
Esquema 12. Antagonistas de receptores de endotelinas (**50**)

3. SÍNTESE DE ANÁLOGOS DE PROSTAGLANDINAS

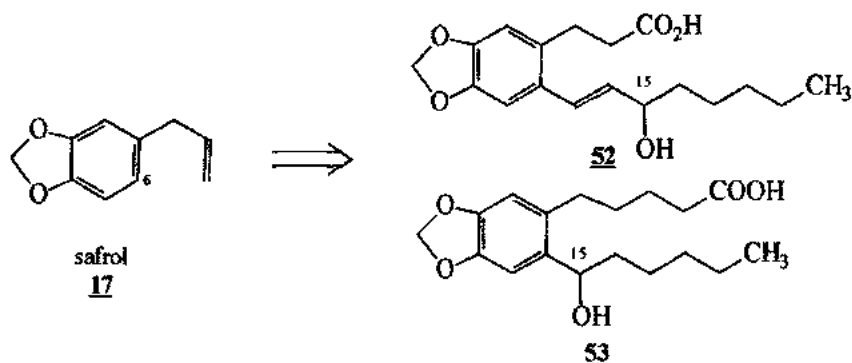
A cascata do ácido araquidônico (CAA) (Barreiro, 1987; Barreiro, 1988) é responsável pela bioformação de importantes mediadores celulares como os eicosanóides, dentre os quais se encontram as prostaglandinas (PG) com significativa relevância fisiológica (Barreiro, 1979). Estas substâncias são reconhecidas como participantes de diversos processos fisiopatológicos, entre estes a resposta inflamatória. A inibição seletiva de enzimas desta cascata biossintética tem sido um atraente sítio de intervenção terapêutica para o tratamento de doenças inflamatórias crônicas (Freitas e Barreiro, 1994), sendo reconhecido, atualmente, que a ação dos anti-inflamatórios não esteróides (NSAI) e do ácido acetilsalicílico (AAS) se faz por inibir a ciclooxigenase (COX), primeiro complexo enzimático envolvido na bioformação das prostaglandinas (PG) (Vane, 1971; Vane e O'Grady, 1993).

A síntese de prostaglandinas modificadas, visto sua importância fisiológica e vulnerabilidade à biofase, atraiu o interesse de diversos grupos de pes-

quisas, tanto acadêmicos como industriais. Estes estudos resultaram na introdução na terapêutica do misoprostol (51) (Collins et al., 1977) um derivado prostanoidal modificado que atua como agonista de receptores gastro-intestinais de PGE, tendo aplicação no tratamento e prevenção da úlcera péptica.

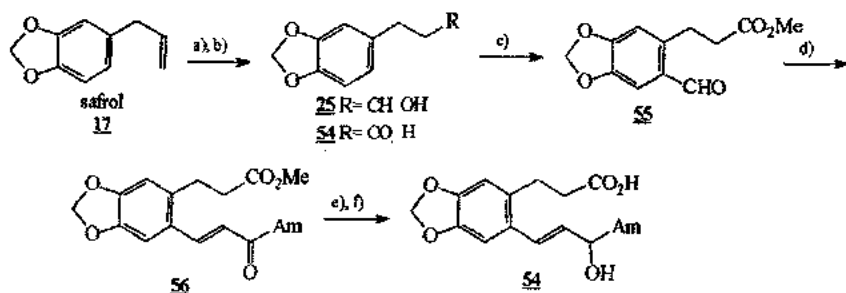


Neste contexto, o safrol (17) foi empregado como matéria-prima para a síntese de novos prostanóides híbridos (52, 53) (esquema 13) (Farias et al., 1984; Coelho et al., 1984), explorando a unidade metilenodioxila do produto natural como análoga ao anel ciclopentânico dioxigenado das PG.



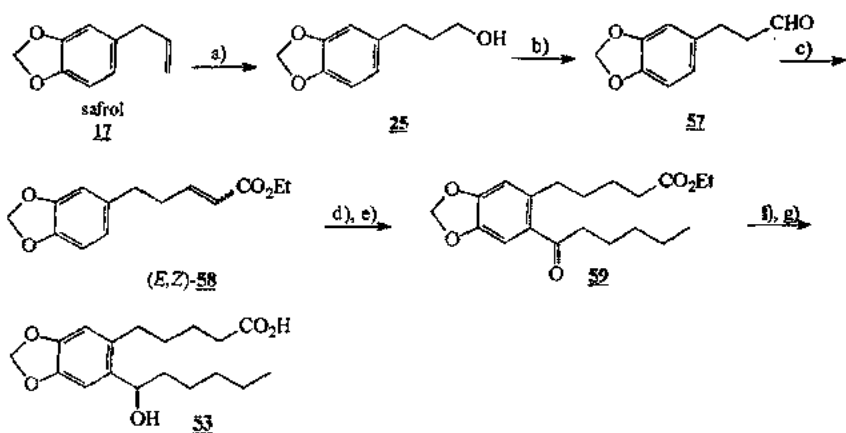
Esquema 13. Síntese de novos prostanóides híbridos a partir do safrol (17)

Os esquemas 14 e 15 descrevem a síntese de análogo da tromboxana A_2 (52), onde a cadeia-w de PG está localizada no C-6 do safrol e o derivado prostanoidal híbrido (53) onde a ligação dupla típica da cadeia-w de PG está internalizada no anel aromático do produto natural de partida sendo o anel dióxolânico a unidade que mimetiza o anel ciclopentânico di-oxigenado de PG, respectivamente (Barreiro et al., 1985).



a) i. NaBH_4 , $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$, diglima, 20°C , 1 h; ii. H_2O_2 30%, NaOH 6N, refluxo, 4h, 78%;
 b) CrO_3 , H_2SO_4 , Me_2CO , $0-5^\circ\text{C}$, 1h, 75%; c) $\text{CH}_3\text{OCH}_2\text{Cl}$, AcOH , t.a., 12h, 83%;
 d) $(\text{MeO})_2\text{POCH}_2\text{COAm}$, KH , DME , t.a., 12h, 75%; e) NaBH_4 , MeOH , -15°C , 30min, 85%; f) K_2CO_3 , $\text{MeOH}:\text{H}_2\text{O}$ (4:1), t.a., 12h, 98%.

Esquema 14. Síntese do análogo de tromboxana A_2 (**54**), utilizando-se o safrol (**17**) como matéria prima

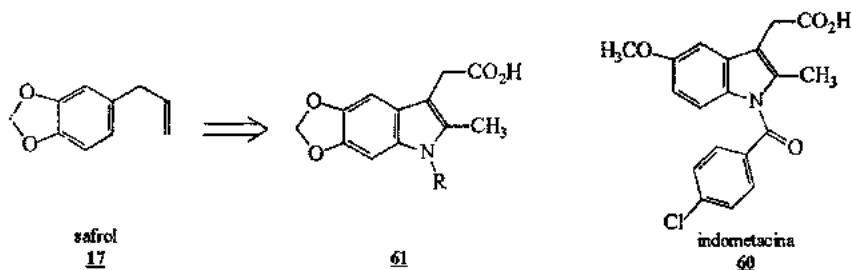


a) NaBH_4 , $\text{BF}_3 \cdot \text{O}$, diglima, 20°C , 1h; H_2O_2 30%, NaOH 6N, refluxo, 4h, 80%; b) PDC , CH_2Cl_2 , t.a., 3h, 97%; c) $\text{PH}_3\text{P}=\text{CHCO}_2\text{Et}$, THF , 0°C , 10h, 88%;
 d) 10% Pd/C , AcOEt , t.a., 2h, 98%; e) $\text{C}_3\text{H}_7\text{CO}_2\text{H}$, $(\text{CF}_3\text{CO})_2\text{O}$, HClO_4 (cat.), t.a., 8h, 65%; f) NaBH_4 , MeOH , -10°C , 30min, 90%; g) K_2CO_3 , $\text{MeOH}:\text{H}_2\text{O}$ (4:1), t.a., 7h, 98%.

Esquema 15. Síntese do derivado prostanoic híbrido (**53**) a partir do safrol (**17**)

4. SÍNTESE DE ANÁLOGOS DE AGENTES ANTIINFLAMATÓRIOS NÃO-ESTERÓIDES (NSAI)

O mecanismo de ação atribuído aos agentes NSAI clássicos, onde a indometacina (60) foi um dos protótipos, reside na inibição da prostaglandina-endoperoxído sintase (PGHS) (Vane, 1971). Este ácido indólico (40) foi descoberto por Shen e colaboradores (Shen et al., 1963) nos laboratórios MS&D. Estudos subseqüentes sobre a relação estrutura e atividade (SAR) antiinflamatória deste composto e de numerosos análogos sintéticos, levaram Shen e colaboradores a proporem a primeira topografia para o receptor de agentes NSAI, depois identificada com a COX. Em 1982, iniciou-se o estudo de um método de síntese de um análogo da indometacina (61) a partir do safrol (17) (esquema 16) (Barreiro et al., 1982). A analogia estrutural entre o derivado sintético proposto (61 R= *p*-ClC₆H₄) e a indometacina é óbvia, sendo que o composto oriundo do safrol (17) apresenta a função dioxolana, compreendendo à unidade metilenodioxila do produto natural, ao invés do éter metílico em C-5 do núcleo indólico da indometacina (60).



Esquema 16. Síntese do análogo (61) da indometacina (60), a partir do safrol (17)

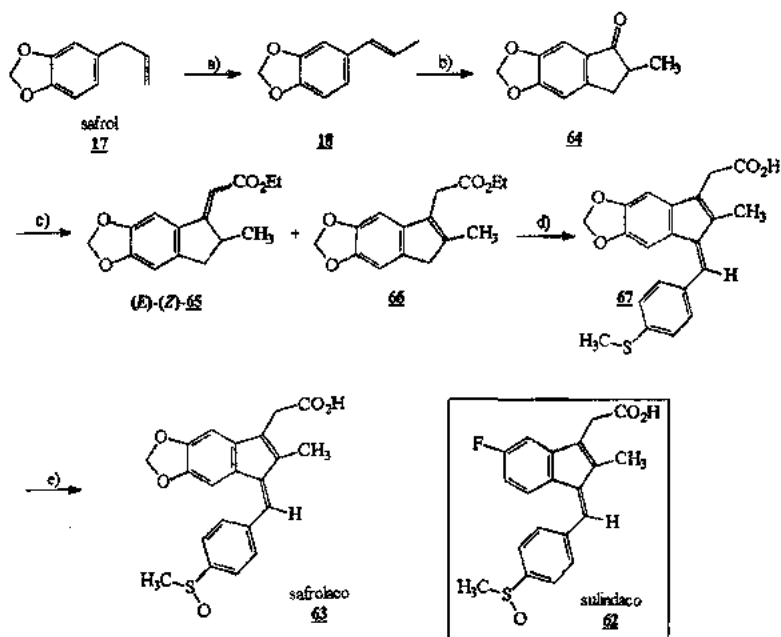
A descoberta de efeitos colaterais centrais com o uso crônico da indometacina, atribuída a labilidade plasmática da função *N*-*para*-clorobenzoíla, conduziu Shen e colaboradores a descobrirem o sulindaco (62) (Shen et al., 1972) um isôstero indênico, bioestável, da indometacina. Este composto apresenta ainda a vantagem do caráter pró-fármaco, devido à presença da unidade *para*-metilsulfóxido, o que reduz os efeitos colaterais gastro-irritantes típicos desta classe de agentes terapêuticos. Considerando as vantagens terapêuticas do sulindaco sobre a indometacina, foram estendidos os estudos da utilização do safrol na síntese de análogos de agentes NSAI clássicos, à síntese de compostos análogos ao sulindaco (63) (esquema 17) (Lima, 1989). O derivado proposto respeita todos os requisitos estruturais mínimos conhecidos pela relação estrutura-atividade (SAR) da série de derivados antiinflamatórios não-esteróides dos ácidos aril-acéticos, além de apresentar a configura-

ção da ligação dupla benzilidênica análoga ao sulindaco. A principal diferença estrutural entre este derivado (63), obtido a partir do safrol (17) e o próprio sulindaco (62), reside na presença da unidade benzometilenodioxila, oriunda do produto natural de partida, como unidade isostérica à função 5-fluorfenila do sistema indênico do sulindaco (62). A metodologia sintética desenvolvida, ilustrada no esquema 17 (Lima e Barreiro, 1992), permitiu a obtenção diastereosseletiva do novo derivado desejado, com a configuração relativa da insaturação ao nível da unidade benzilidênica no isômero majoritário idêntica àquela do sulindaco (62). A rota sintética estudada permitiu a preparação da 2-metil-indanona funcionalizada (64), como intermediário, a partir do isosafrol (18), sendo este composto importante sinton para outros derivados análogos de agentes NSAI, conforme ilustrado infra. A rota sintética descrita no esquema 17 se caracteriza pela versatilidade, regio- e diastereosseletividade empregando etapa-chave *one-pot* permitiu a obtenção do novo derivado proposto em elevados rendimentos globais.

Considerando-se os dados disponíveis à época sobre a SAR desta classe de derivados antiinflamatórios, especialmente os relatos de Shen e colaboradores (Shen e Winter, 1977), sobre a maior atividade de derivados ácidos α -metilpropionícos sobre derivados ácidos aril-acéticos correspondentes, decidiu-se sintetizar um novo análogo do sulindaco (62), denominado safrolaco (63) que compreende uma nova classe de agentes NSAI (Lima e Barreiro, 1992). A síntese deste novo derivado bioativo está ilustrada no esquema 17.

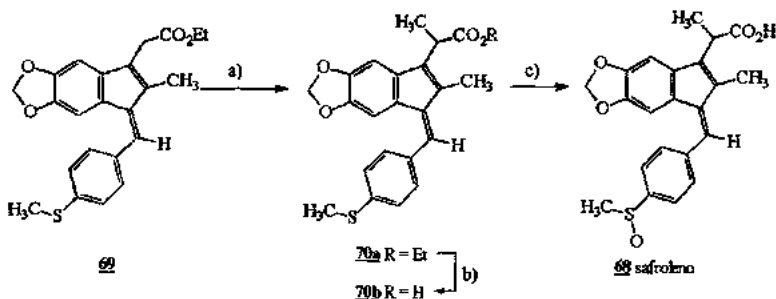
Os resultados da avaliação farmacológica destes novos compostos, bem como dos correspondentes sulfetos (67) e (70b), realizada através do teste do edema da pata de rato induzido por carragenina (Pereira et al., 1989), confirmaram o antecipado perfil anti-edematogênico, típico desta classe de agentes NSAI, identificando uma nova relação bioisostérica entre as unidades *para*-FC₆H₃ do sulindaco e benzometilenodioxila presente nos novos compostos bioativos sintetizados a partir do safrol (Barreiro, 1991).

Por outro lado, estes novos compostos denominados safrolaco (63) e safroleno (68), apresentaram o mesmo perfil pró-fármaco encontrado para o sulindaco (62), demonstrando a bioestabilidade metabólica da função dioxolana. Pôde-se identificar (Pereira et al., 1989) que os correspondentes *para*-metilsulfetos (67) e (70b), intermediários na rota sintética estudada (esquemas 17 e 18), foram menos ativos, comportamento idêntico ao demonstrado para o sulindaco (62) e atribuído como responsável pelo reduzido índice de ulcerogenicidade que causa, mesmo em posologias continuadas para o tratamento de quadros inflamatórios crônicos.



a) KOH 3N, *n*-BuOH, refluxo, 3h, 98%; b) DMF, POCl₃, 120°C, 3 h; NaOH, MeOH:H₂O, 85%; c) BrCH₂CO₂Et, Zn⁰, catálise, benzeno, 5h, 81%; d) MeONa, MeOH, refluxo; MeSC₆H₄CHO, 12h; H₂O, refluxo, 1h, 82%; e) NaIO₄, MeOH, H₂O, 96%.

Esquema 17. Síntese do safrolaco (63), análogo do sulindaco (62), a partir do safrol



a) CH₃N₃, CH₂Cl₂; LDA, -78°C; CH₃I, -78°C, 1h; NH₄Cl, 95%; b) NaOH, MeOH/ H₂O, refluxo, 2h, 95%; c) NaIO₄, aq., MeOH, t.a., 8h, 96%

Esquema 18. Síntese do safroleno (68), análogo do sulindaco (62)

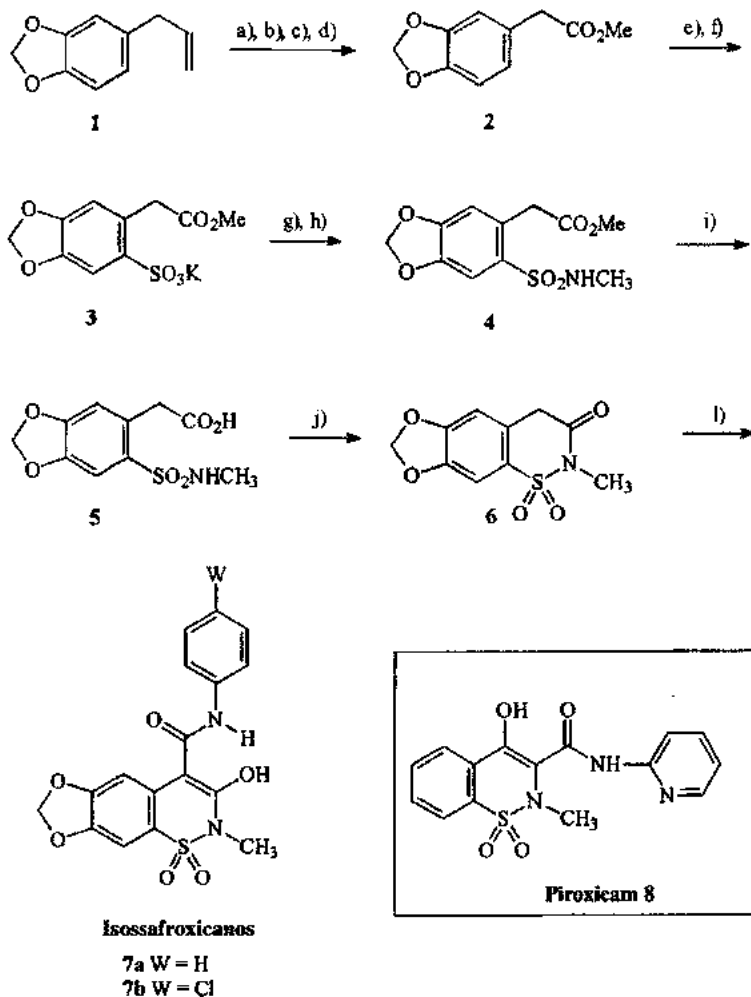
Estes resultados comprovam que os compostos sintetizados a partir do safrol representam nova classe de agentes NSAÍ, obtidos a partir de produto natural brasileiro abundante, atuando pelo mesmo mecanismo que o sulindaco.

Em 1972, a Pfizer lançou o protótipo da classe dos oxicanos, representado pelo piroxicam (71) (Lombardino e Wiseman, 1972; Lombardino, 1985), um agente NSAÍ enólico que apresentou reduzido perfil ulcerogênico. Considerando os resultados positivos obtidos na síntese de novos análogos de agentes NSAÍ clássicos a partir do safrol (17), foi investigada uma rota sintética para análogos dos oxicanos a partir do safrol (72a e 72b) (Fraga, 1991).

A rota sintética empregada na construção dos compostos-alvo (72a e 72b) se encontra descrita no esquema 19 (Fraga e Barreiro, 1992). A etapa-chave deste processo consistiu na funcionalização regioseletiva da posição 6 do núcleo 1,3-benzodioxólico de (73), empregando metodologia de sulfonação eletrofílica extremamente branda, que evita a formação de produtos de clivagem da ponte metilenodioxila. Em seguida, a adequada manipulação de grupamentos funcionais do composto (74), permitiu a construção do sistema heterocíclico presente no intermediário-chave 6,7-metilenodióxi-3-oxo-1,2-benzotiazínico-1,1-dióxido (77), explorando a ciclização catalisada por ácido do derivado ácido-sulfonamida (76). Finalmente, os novos derivados denominados isossafroxicanos (72a) e (72b) foram preparados através da condensação regioespecífica do ânion da 1,2-benzotiazinona (77) com os respectivos isocianatos aromáticos. Desta forma, os novos análogos de (71) foram preparados a partir do safrol (17) em ca. 35% de rendimento global.

A avaliação preliminar das propriedades antiinflamatórias dos isossafroxicanos (72a e 72b) (esquema 19), empregando-se como modelo de inibição da enzima ciclooxigenase, o teste de edema de pata de rato induzido por carragenina, mostrou que o derivado *para*-clorofenila substituído (72b) foi cerca de 3 vezes mais potente que o derivado não substituído (72a) e equipotente ao próprio piroxicam na dose de 33 mg/kg, indicando que a presença de substituintes com valores de σ_p positivos, aumentando a acidez destes compostos favorece sua potência como antiinflamatório.

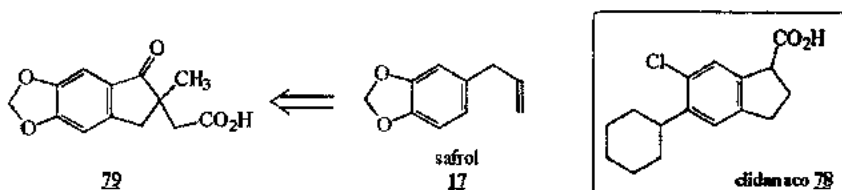
Em 1983 foi introduzido no mercado, pela Bristol-Meyers, o clidanaço (78) (Juby, 1971), agente NSAÍ com propriedades analgésicas e antipiréticas sintetizado por Juby e colaboradores, que apresenta reduzidos efeitos gastro-irritantes (Juby et al., 1972). O clidanaço é derivado da classe dos ácidos α -metilfenilacéticos de conformação restrita pela introdução do sistema indânico e representou uma importante variação estrutural nesta classe de agentes NSAÍ. Tendo desenvolvido, quando da síntese do safrolaco (63) (esquema 17), metodologia sintética de obtenção de derivado α -meti-



a) O_3-O_2 , AcOH, $-10^\circ C$, 4h; b) Zn, AcOH, $0^\circ C$, 2h; c) H_2CrO_4 , acetona, $0^\circ C$, 30min; d) CH_2N_2 , $Et_2O:1,4\text{-dioxana}$ (4:1), t.a., 30min, (80%, 4 etapas); e) H_2SO_4 , Ac_2O , $AcOEt$, $0^\circ C$, 3h; f) KOAc, EtOH 95%, t.a., 30min, (90%, 2 etapas); g) $SOCl_2$, DMF_{cat}, $60^\circ C$, 3,5h (81%); h) CH_3NH_2 40%, $CHCl_3$, $0^\circ C$, 3h (90%); i) KOH, MeOH: H_2O (1:1), refluxo, 4h (98%); j) TsOH, tolueno, refluxo, 6h (94%); l) C_6H_5NCO ou 4- ClC_6H_4NCO , Et_3N , DMF, t.a., 5h (73 e 88%, respectivamente).

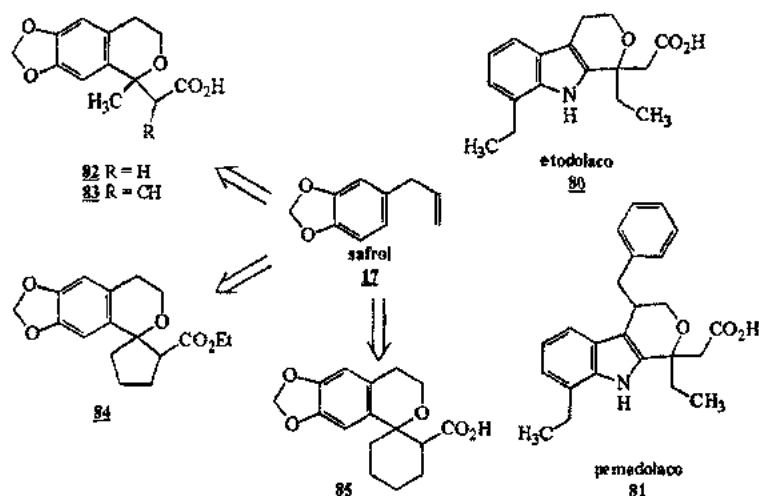
Esquema 19. Síntese de isossafroxicanos, análogos do piroxicam (71)

lindanônico (64), a partir do safrol (17), foi estudada uma rota sintética para o novo composto (79) (esquema 20), estruturalmente relacionado ao clidanaco, onde os substituintes do anel aromático foram substituídos pela unidade metilenodioxila originária do safrol (17) (César, 1990). Os resultados da avaliação farmacológica deste novo derivado não evidenciaram atividade AI significativa (César, 1990). Entretanto, (79) apresentou importantes propriedades analgésicas, determinadas no teste da redução das contorções induzidas por solução 0,2% de ácido acético, com resposta dose-dependente, reduzindo em 94% o número de contorções em camundongos na concentração de 25 mg/kg p.o. Estes resultados indicam que este novo composto (79) preparado a partir do safrol, representa um novo protótipo para derivados analgésicos de ação periférica (César, 1990).



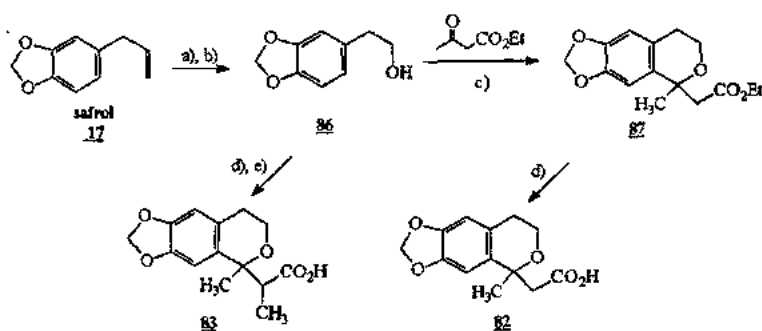
Esquema 20. Síntese de análogos do clidanaco (78)

Em 1976, Martel e colaboradores descreveram o etodolaco (80) (Martel et al., 1976) derivado indólico com potentes ações antiinflamatórias e analgésicas. O mesmo laboratório Ayerst descobriu após, introduzindo modificações no etodolaco, o pemedolaco (81) (Katz et al., 1988), análogo benzilico do etodolaco, que apresentou melhor perfil analgésico, atribuído a efeitos conformacionais no anel isocromânico, causados pela introdução da unidade benzilica em C-4. Com estes dados disponíveis na literatura e considerando a clássica relação bioisostérica entre anéis aromáticos - heterocíclicos ou não (Barreiro, 1991) - foi desenvolvido um método de síntese para os derivados (82) e (83), planejados como novos bioisósteros do etodolaco (esquema 21), em que o sistema indólico encontra-se substituído pelo sistema benzometilenodioxila do safrol.



Esquema 21. Saffrol como precursor de análogos do etodolaco (80) e pemedolaco (81)

A rota sintética empregada para a síntese destes novos compostos está ilustrada no esquema 22 (Silva, 1991; Silva e Barreiro, 1993) e mostrou-se regioseletiva, graças a maior reatividade da posição C-6 do produto natural de partida.

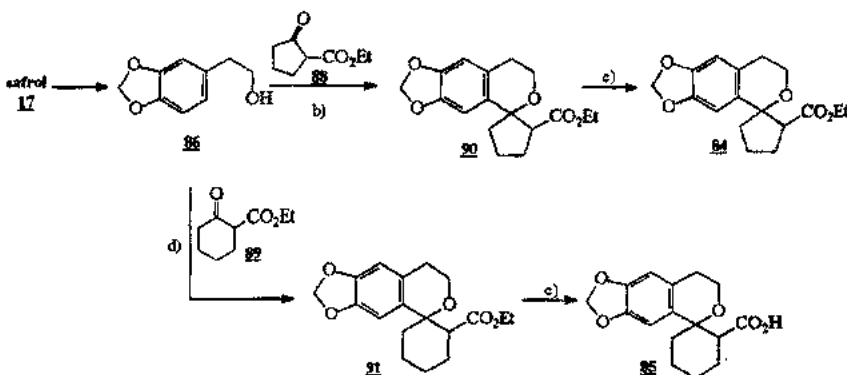


a) O_3/O_2 , AcOH, $0^\circ C$, 1h; Zn° , AcOH, 93%; b) $NaBH_4$, MeOH, $10^\circ C$, 1h, 94%; c) acetoacetato de etila, benzeno, TsOH, refluxo, 12h, 79%; d) 2-metil-3-oxo-butirato de etila, benzeno, TsOH, refluxo, 24h, 19%; e) KOH 20%, Et:H₂O, refluxo, 8h, 94%.

Esquema 22. Rota sintética para obtenção dos compostos (82) e (83)

Considerando o perfil de atividade AI observada para os novos derivados ácidos isocromanil-carboxílicos (82) e (83), que se mostraram ativos e com propriedades analgésicas importantes (Silva e Barreiro, 1993), foi introduzido um maior grau de restrição conformacional no composto mais ativo como estratégia de modificação molecular visando a otimizar a atividade analgésica observada. Desta forma, os derivados espirânicos análogos (84) e (85) foram sintetizados (esquema 23) (Cabral, 1993) objetivando-se investigar a contribuição de fatores conformacionais na potencialização da ação analgésica, conforme ocorre com o pemedolaco (Katz, 1988).

A rota sintética empregada, desta feita, compreendeu modificações menores àquela anteriormente descrita (esquema 23) e mostrou-se regio- e diastereoseletiva, levando à formação dos ácidos 4-espiro-acéticos (84, 85) com configuração relativa predominante (4S-2'R), conforme evidenciado pela análise dos dados espectroscópicos de ^1H RMN, que indicou uma relação 9:1 em favor do isômero majoritário. A avaliação comparativa das propriedades analgésicas nas duas séries homólogas (*i.e.* 84 e 85) confirmou a hipótese da restrição conformacional também nesta classe de derivados, tendo sido os derivados espiralados (84) mais potentes analgésicos do que (85) (Cabral e Barreiro, 1995). Estes resultados indicam que na série de derivados 4-espiro o anel ciclopentânico introduziu maior restrição conformacional do que o anel cicloexânico, favorecendo a maior atividade analgésica, que mostrou-se equipotente à dipirona empregada como padrão no bioensaio efetuado (Cabral e Barreiro, 1995). Estes resultados permitem que se considere o sistema isocromânico, sintetizado a partir do safrol, como nova unidade bioisostérica do sistema indólico para ação antiinflamatória.



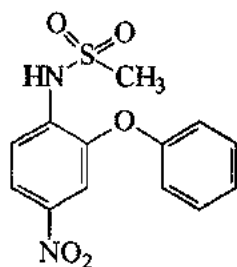
a) O_3 , AcOH, Zn^0 ; NaBH_4 , MeOH, 0°C , 1h, 96%; b) $\text{BF}_3\text{Et}_2\text{O}$, THF, 2-carboetóxi-ciclopentano-1-ona, 12h, 79%; c) KOH, $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$, refluxo, 6h, 96%; d) $\text{BF}_3\text{Et}_2\text{O}$, THF, carboetóxi-cicloexan-1-ona, 12h, 79%.

Esquema 23. Síntese dos derivados espirânicos análogos (84) e (85)

5. SÍNTESE DE NOVOS PROTÓTIPOS DE INIBIDORES SELETIVOS DE PGHS-2 A PARTIR DO SAFROL

A identificação da isoforma induzida da PGHS, denominada PGHS-2, e os resultados obtidos até então em nosso grupo de pesquisas com o emprego do safrol como matéria-prima na síntese de novas substâncias bioativas a nível da CAA, levaram a considerar a possibilidade de utilizá-lo também como matéria-prima para a síntese de novas classes de inibidores seletivos desta isoforma. Esta isoforma foi descrita em 1992 por Holtzman e colaboradores (Holtzman et al., 1992) e reacendeu o interesse na descoberta de novos agentes NSAI, desta feita seletivos ao nível desta isoforma por representarem a possibilidade de se obterem derivados terapêuticamente úteis para o tratamento de quadros inflamatórios crônicos, sem os riscos dos severos efeitos gastro-irritantes dos agentes NSAI clássicos.

A descoberta da PGHS-2 motivou o re-estudo do mecanismo de ação anti-inflamatória do nimesulido (92) (Moore e Harrington, 1974), fármaco NSAI introduzido no mercado em 1985, antes da descoberta da PGHS-2. De fato, estes estudos posteriores indicaram que além dos aludidos efeitos *radical-scavenger* atribuídos a este composto (Swingle, Moore e Grant, 1976), este fármaco apresenta índice de seletividade PGHS-2/PGHS-1 da ordem de 1400 (Bevilacqua et al., 1994; Rabasseda, 1996).

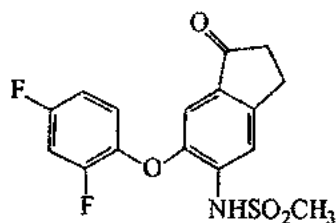


nimesulido 92

IC_{50} oPGHS-1 > 100 mM IC_{50} oPGHS-2 = 0,07 mM S > 1.400
--

O nimesulido (92), empregado como agente AI desde 1985, época anterior à descoberta da PGHS-2, não apresenta, contrariamente aos NSAI clássicos, a função ácido carboxílico. Este fármaco apresenta em sua estrutura a unidade *para*-fenilmetilsulfonamida nitrada e foi o composto-protótipo da série de sulídeos descobertos posteriormente como inibidores seletivos de PGHS-2 (Reits e Seibert, 1996) (Barreiro et al., 1998). Dentre os vários derivados seletivos descritos, encontra-se o flosulido (93) (Klein et al., 1994) com índice de seletividade PGHS-2/PGHS-1 da ordem de 5000 (Wiesenberger-Bottcher et al., 1989). Esta substância possui evidente similaridade estrutural

com o nimesulido (92), mantendo a característica difeniléter funcionalizado. Ademais, no flosulido (93) a função *para*-nitrofenila, potencialmente hepatotóxica, foi substituída pelo sistema indanônico, guardando a relação *para*-do composto protótipo.



flosulido 93

IC_{50} hPGHS-1 = 72,3 mM IC_{50} rPGHS-2 = 0,015 mM $S \sim 5.000$

Em continuidade à linha de pesquisas do LASSBio, tratando da síntese de novos análogos de agentes NSAI a partir do safrol, foi desenhada uma nova série de candidatos a inibidores seletivos de PGHS-2, a partir do safrol, explorando uma nova possível relação bioisotérica entre o sistema indanona, presente no flosulido (93), e a sub-unidade benzodioxola, presente no safrol (17).

Os derivados eleitos foram os compostos (94-97), que possuem uma relação retro-isotérica entre si, pois a série dos sulidos, possuindo o grupamento sulfonil-amino corresponde à série invertida, sulfonamida. Suas estruturas foram inicialmente estudadas por modelagem empregando a mecânica molecular, de maneira a identificar-se índices de similaridade molecular com derivados da classe dos sulidos (Romeiro, Alencastro e Barreiro, 1997). A ausência de dados, à época, sobre as diferenças topológicas dos sítios ativos das duas isoformas de PGHS, obrigou a desenvolver, preliminarmente, modelo farmacofórico tridimensional para a PGHS-2 (Romeiro, 1998) que confirma o planejamento molecular dos compostos propostos (figura 2). A síntese destes novos derivados (94-97), a partir do safrol (17), está ilustrada nos esquemas 24 e 25 (Lages et al., 1998).

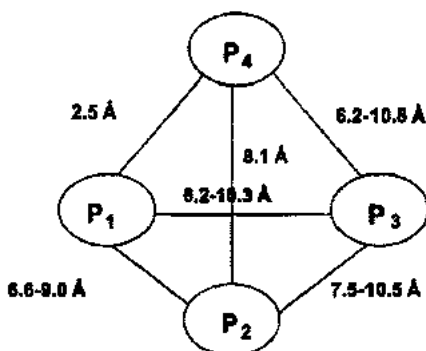
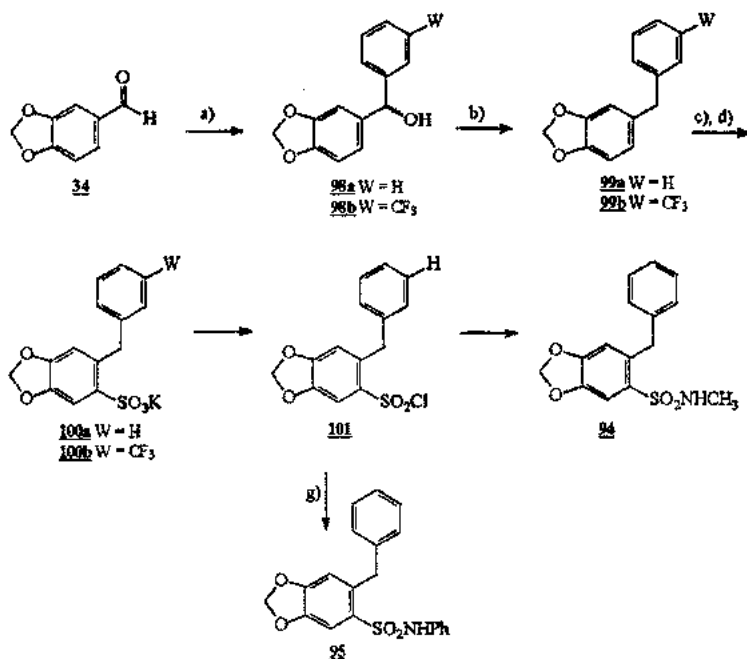
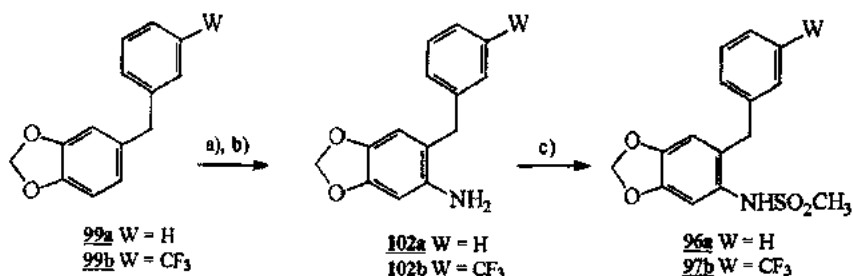


Figura 2. Representação do modelo topográfico tridimensional para a PGHS-2



a) BrPh-W (W=H; W=CF₃), Mg/I₂ (cat.), THF, t.a., 30min, 80%; b) CF₃COOH/NaBH₄, CH₂Cl₂, 0°C, 30min, 90%; c) H₂SO₄/Ac₂O, AcOEt, 0°C, t.a., 4h; d) KOAc/EtOH, t.a., 30min, 80%; e) SOCl₂/DMF (cat.), 60°C, 4h, 57%; f) NH₂CH₃ (aq.) 40%, CHCl₃, 0°C, 4h, 95%; g) NH₂Ph/CHCl₃, t.a., 2h, 96%.

Esquema 24. Síntese de protótipos de inibidores seletivos de PGHS-2 (94 e 95)



a) $HNO_3/CHCl_3$, $0^\circ C$, 3h, 96%; b) $Fe, NH_4Cl, EtOH:H_2O$ (2:1), refluxo, 1h, 88% (a), 89% (b); c) CH_3SO_2Cl , piridina, CH_2Cl_2 , t.a., 40min, 50%.

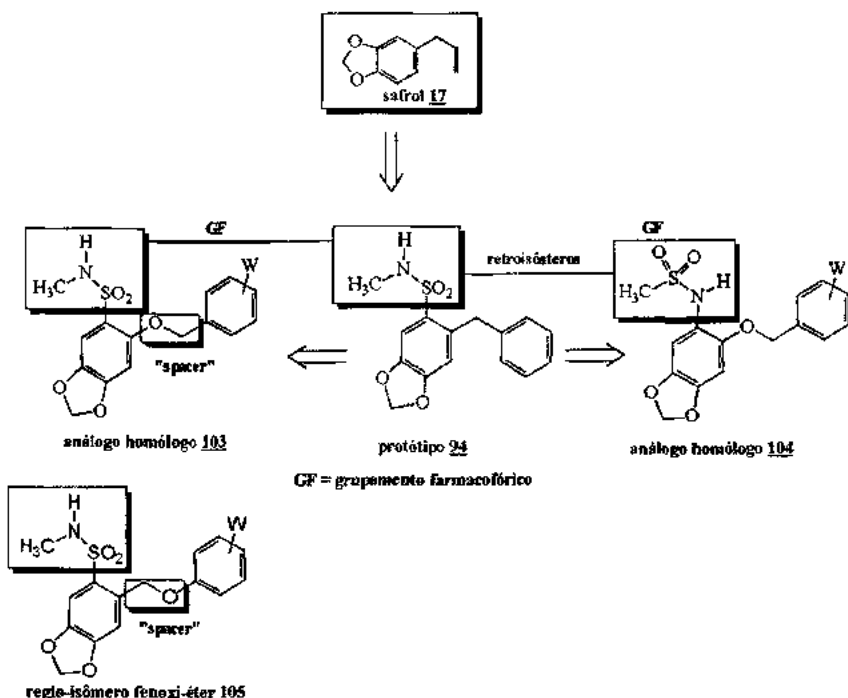
Esquema 25. Síntese de protótipos de inibidores seletivos de PGHS-2 (96 e 97)

Os ensaios farmacológicos com estes novos derivados, retro-isoméricos entre si, confirmaram as premissas antecipadas. O composto (94) mostrou-se mais ativo que o próprio nimesulido (92), empregado como padrão, representando nova classe de candidatas a protótipo de inibidores seletivos de PGHS-2. Observou-se, ainda, que esta classe de compostos não apresentou irritabilidade gástrica em camundongos, mesmo quando administrados em dose seis vezes superiores àquela antiinflamatória. Ademais, estes compostos, em contraste com a indometacina e o próprio AAS, não apresentaram nenhum efeito anti-agregante plaquetário em modelo induzido por ácido araquidônico em plasma de coelho e humano rico em plaquetas. Este conjunto de resultados experimentais indicam efeito inibitório seletivo sobre a PGHS-2, conforme planejado.

6. OTIMIZAÇÃO DO PROTÓTIPO 94

Os estudos de dinâmica molecular realizados com o novo sulido fenílico (94), objetivando identificar-se as razões moleculares de sua menor atividade AI, permitiram identificar-se a proximidade do resíduo Tyr-385 no sítio ativo da PGHS-2, distante cerca de 4,3 Å do término fenílico dos novos derivados ativos (94) e (96). Esta observação orientou o desenho estrutural de novas séries isostéricas entre si (103) e (104), visando-se sua otimização. Estes novos compostos foram estruturalmente planejados por oxa-homologação da sub-unidade espaçadora difenilmetano presente nos compostos originais, de maneira a aproximar-se o anel fenílico não-substituído cerca de 3,8 Å do resíduo Tyr-385, provocando-se novas interações hidrofóbicas capazes de aumentarem a energia de interação destes candidatas a inibidores de PFGS-2 com o sítio ativo da enzima. Outrossim, a inclusão do átomo de oxigênio na ponte difenilmetano ligada ao sistema benzodioxola reduz, teoricamente, o

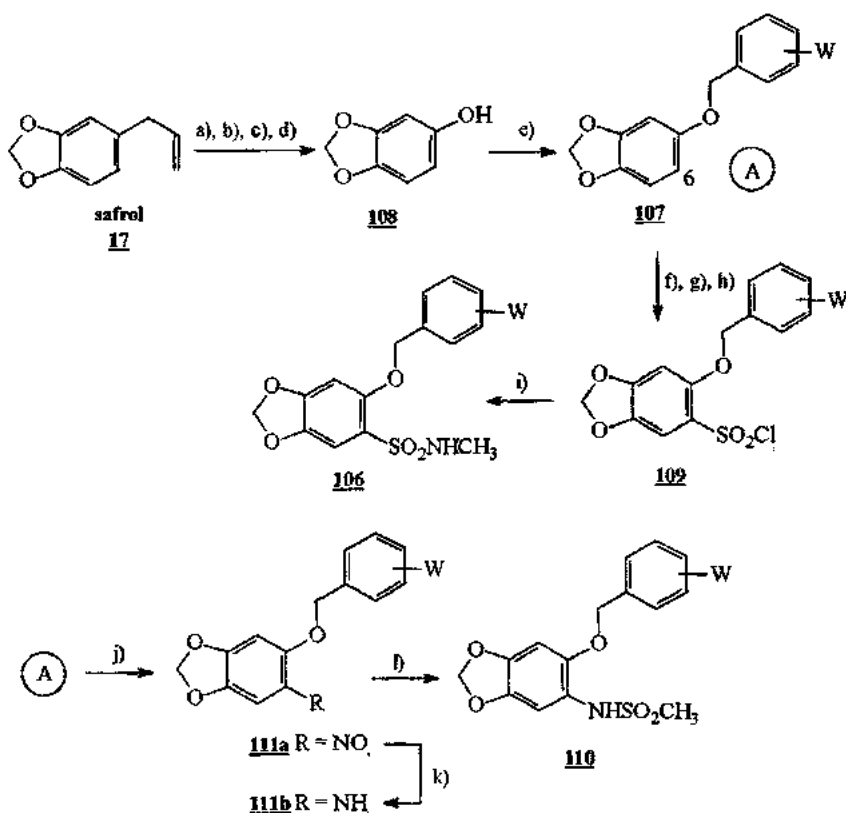
eventual potencial tóxico dos dois isômeros possíveis, originados pela oxa-homologação, a saber, o derivado benzodioxolóxi-éter (103), eleito, e o regio-isômero fenóxi-éter (105) (esquema 26).



Esquema 26. Otimização do protótipo (94)

A síntese da série de compostos (106) empregou como intermediário sintético comum o derivado benzil-éter (A, 107, esquema 27), preparado a partir do produto natural (17) em 56 % de rendimento. O esquema 27 ilustra as cinco etapas empregadas em sua síntese que envolveram a cisão oxidativa da ligação benzílica da unidade C-3 da cadeia do safrol, para obter-se o sesamol (108) que por *O*-alquilação com haletos de benzila funcionalizados forneceu o intermediário-chave A (107) (Silva, 2000). Os derivados sulfonamídicos (106) foram preparados através da sulfonação regioseletiva da posição 6 de (107), seguido de tratamento do cloreto de sulfonila (109) com metilamina. Por outro lado, os retroisômeros sulfonilamínicos (110) foram obtidos pela nitratação regioseletiva da posição 6 do intermediário-chave (107), seguido de redução e mesilação do grupamento amina aromática em meio básico (Silva, 2000).

A avaliação farmacológica dos derivados sulfonamídicos (**106**) e sulfonilamínicos (**110**) desta nova série, no modelo de edema de pata de rato induzido por carragenina não confirmou o perfil antecipado, indicando que o aumento da liberdade conformacional da cadeia lateral teve efeito deletério sobre a atividade antiinflamatória (Silva, 2000).

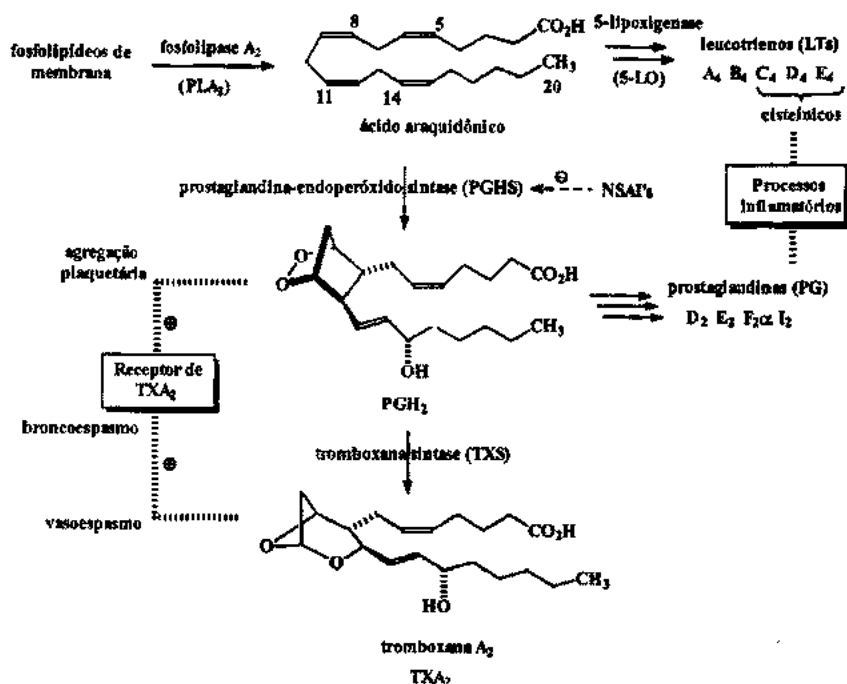
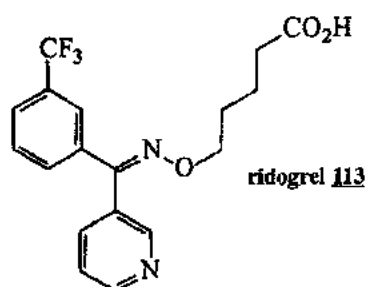
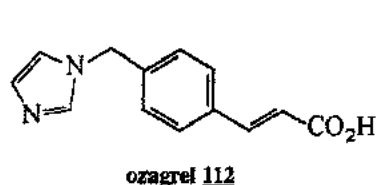


a) KOH 3N, n-BuOH, refluxo, 3h; b) O₃-O₂, AcOH, -10°C, 4h; c) Zn, AcOH, 0°C, 2h, (75%, 3 etapas); d) i- m-CPBA, CH₂Cl₂, refluxo, 20h, ii- KOH, MeOH, t.a., 30min, (90%, 2 etapas); e) W-C₆H₄CH₂Br, K₂CO₃, DMF, t.a., 24h, 70-83%; f) H₂SO₄, Ac₂O, AcOEt, 0°C, 3h; g- KOAc, EtOH 95%, t.a., 30min, (96%, 2 etapas); h) i-SOCl₂, DMF_{cat}, 60°C, 3h; i) CH₃NH₂, 40%, CHCl₃, t.a., 2h (88-93%, 2 etapas); j) HNO₃/ CHCl₃, 0°C, 15min., 80-85%; k) Fe, NH₄Cl, EtOH:H₂O (2:1), refluxo, 1,5h, 42-65%; l) CH₃SO₂Cl, piridina, CH₂Cl₂, t.a., 40min, 72-82%.

Esquema 27. Obtenção de novos derivados sulfonamídicos, a partir do safrol (**17**).

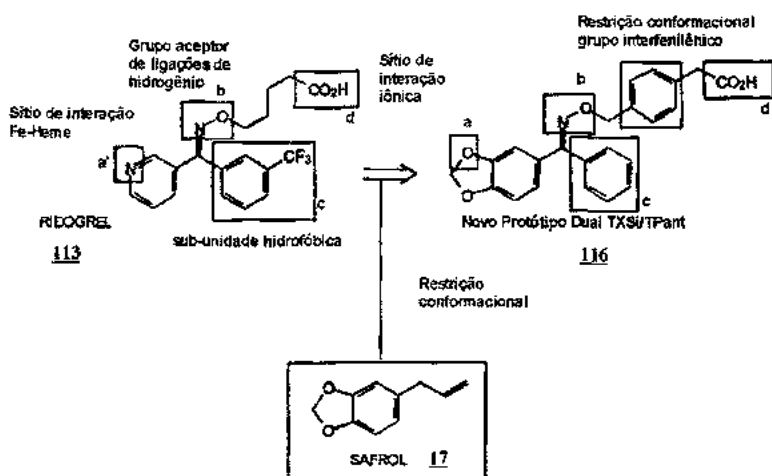
7. SÍNTESE DE NOVOS AGENTES ANTI-TROMBÓTICOS A PARTIR DO SAFROL

A descoberta do envolvimento da tromboxana A_2 (TXA_2) na fisiopatologia de processos isquêmicos, identificou a tromboxana-sintase (TXS), enzima citocromo P_{450} (CYP450) dependente, envolvida na biotransformação do endoperóxido de prostaglandina H_2 (PGH $_2$) em TXA_2 , como atraente alvoterapêutico para o tratamento e prevenção do acidente trombo-isquêmico (esquema 28) (Katz et al., 1988). Desta forma, o desenho de protótipos de inibidores de TXS (Mobilio et al., 1988) passou a atrair o interesse de diversos grupos de pesquisas. Estudos com derivados N-heterocíclicos funcionalizados, particularmente derivados imidazólicos, em razão da afinidade pelo CYP450 indicaram ação inibidora sobre a TXS, e viabilizaram a descoberta do ozagrel (112) (Barreiro, 1991). Este fármaco, derivado acrílico de estrutura extremamente simples, foi licenciado em 1995 pela agência *Food and Drug Administration* (FDA) dos Estados Unidos para uso no tratamento de trombozes atuando como inibidor de TXS (TXSi). Este foi o primeiro fármaco anti-trombótico útil para o tratamento ou prevenção de quadros cardio-isquêmicos e asmáticos, agindo por este novo mecanismo de ação (Silva e Barreiro, 1993) e, portanto, representando uma autêntica inovação terapêutica. Estudos farmacológicos posteriores à sua descoberta demonstraram que o bioprecursor de TXA_2 , a PGH $_2$, de estrutura semelhante, possui propriedades agonistas dos receptores de TXA_2 (TP) (Silva, 1991) (esquema 28), provocando efeitos agregantes plaquetários e reduzindo, portanto, a eficácia terapêutica dos TXSi. Esta observação indicou que agentes anti-trombóticos mais eficazes, atuando na cascata do ácido araquidônico (CAA), seriam compostos com ação dupla TXSi e TPant. Esta atividade dual permitiria prevenir, simultaneamente, a formação de TXA_2 pela inibição da TXS e a atividade agonista do precursor acumulado (PGH $_2$) (Chau e Weichman, 1989) pela ação TPant. Desta forma, uma segunda geração de agentes anti-trombóticos de ação dual TXSi/TPant. foi desenvolvida, sendo o rido-grel (Cabral e Barreiro, 1995) (113), derivado O-alkil-éter de oxima, um importante representante desta classe. Outrossim, compostos com simples propriedades TPant são atraentes candidatos a agentes anti-trombóticos, pois previnem a ação de TXA_2 e PGH $_2$. Uma classe química de compostos com importantes propriedades TPant, compreende os derivados aril-alkilsulfonamidas, onde o sulotrobano (Cabral, 1993) (114, BM 13177) foi o protótipo e o primeiro TPant não-prostanoidal que apresentou atividade anti-plaquetária *in vivo* e *in vitro* (Cross e Dickinson, 1987; Hall, 1991). Em seguida foi descrito o daltrobano (Ong e Allen, 1988; Fiddler e Lumley, 1990) (115, BM 13505), outro representante importante desta classe, que se apresentou vinte vezes mais potente que o protótipo (114).

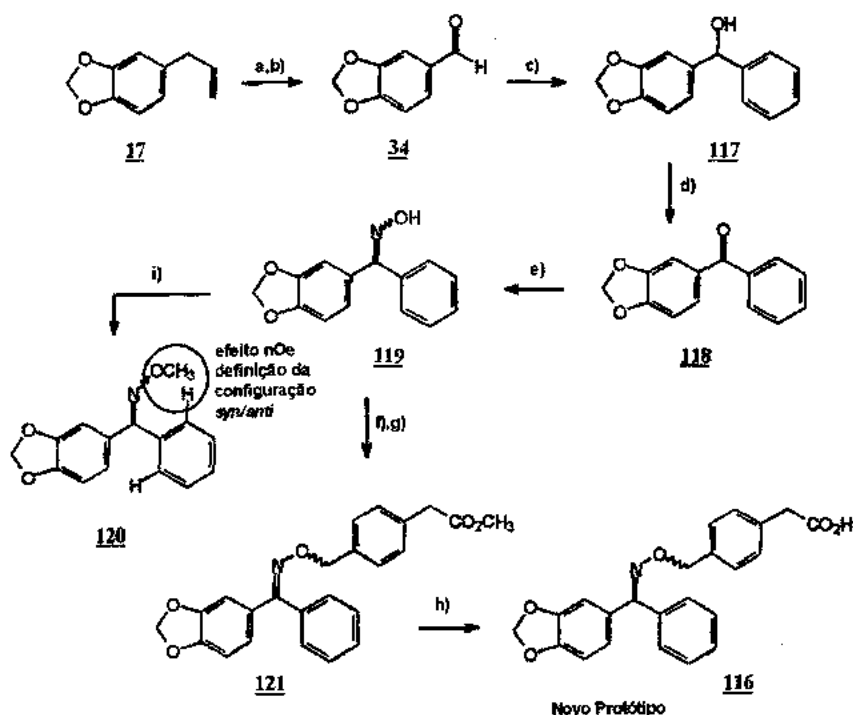
Esquema 28. Biossíntese de prostaglandinas, tromboxana A₂ e leucotrienos

Identificados os receptores de TXA₂ (TP) e a TXS como alvos terapêuticos para o tratamento de quadros trombo-isquêmicos, o derivado (116) e análogos foram desenhados como candidatos a agentes anti-trombóticos com prováveis propriedades duais TXSi/TPant. O composto (116) foi estruturalmente planejado (esquema 29) considerando-se a ponte metilendioxita, originária do safrol (17), utilizado como matéria-prima, como sítio de interação com o

CYP450 da TXS, mimetizando os átomos de oxigênio da unidade bicíclica da PGH2 (esquema 28), substrato natural desta enzima Cit.P₄₅₀ dependente (Ackerley et al., 1995). Modelo da topografia da TXS, indicava uma distância ideal de 8,5-10 Å entre o átomo de oxigênio O-9 da função endoperóxido do substrato natural e a função ácido carboxílico terminal, como fator estrutural crítico no processo de reconhecimento molecular pela enzima (De Clerk et al., 1989). Estudos de modelagem, utilizando a mecânica molecular, permitiram a construção de modelo topográfico misto, útil para o planejamento molecular dos novos derivados propostos com candidatos a protótipos duais TXSi-TPant de agentes anti-trombóticos (Hamberg et al., 1976). Este modelo 3D reconheceu o novo derivado (116) proposto, onde a cadeia ácido carboxílico, essencial à atividade pretendida, encontra-se incluída na unidade *para*-benzilacética em (116) introduzindo um adequado e desejável nível de restrição conformacional a esta sub-unidade farmacoforicamente importante, favorecendo a distância preconizada como ideal e necessária ao reconhecimento molecular pela TXS (Hamberg et al., 1976). Outrossim, a restrição conformacional da cadeia ácido carboxílico de (116) e a presença do anel fenílico não-substituído da dupla ligação imínica, de configuração definida, introduz um possível caráter de ação dual a este novo derivado (116), contribuindo para seu reconhecimento, também, pelos receptores de TXA₂. Definida a estrutura, uma rota sintética para o novo protótipo de agente anti-trombótico proposto (116) foi desenvolvida, a partir do safrol (17), conforme ilustra o esquema 30 (Kato et al., 1985; Albuquerque et al., 1995; Reis, 1996; Reis et al., 1997).



Esquema 29. Síntese de protótipo de agente anti-trombótico (116) a partir do safrol



a) KOH, 3N, nBuOH, refl., 3h (98%); b) O_3-O_2 , AcOH, -10°C , 4h; Zn, AcOH, 0°C , 2h (75%); c) PhMgBr , THF, t.a., 40min, 60%; d) MnO_2 , THF, refluxo, 30min, 70%; e) $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$, NaOH, EtOH, H_2O , refluxo, 30min, 64%; f) $i\text{-NaH}$, THF, refluxo, 30min; ii- $\text{para-BrCH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{CH}_2\text{COOH}$, THF, refluxo, 18h; g) $i\text{-CH}_2\text{N}_2$, Et_2O , t.a.; ii-separação cromatográfica (SiO_2); h) LiOH , acetona, t.a., 7h (20%, 5 etapas); i) $i\text{-NaH}$, THF, refluxo, 30min; ii-Mel, t.a.

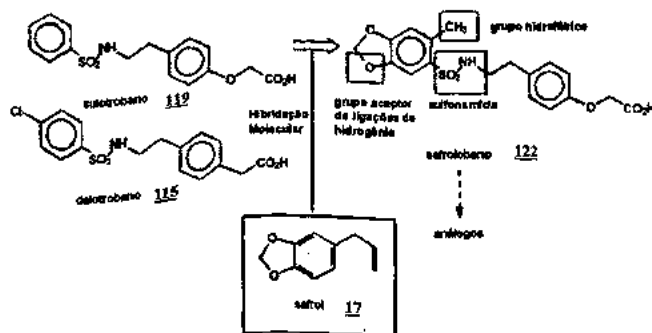
Esquema 30. Síntese de um novo protótipo de agente anti-trombótico (116) a partir do safrol

Os resultados da avaliação farmacológica do novo derivado (116), denominado safrogrel, e análogos (Albuquerque et al., 1995; Reis, 1996; Reis et al., 1997), no bioensaio de inibição da agregação plaquetária induzida por ácido araquidônico no plasma rico em plaquetas de coelho, confirmaram o antecipado perfil anti-agregante plaquetário (Ormelli et al., 1997). Os resultados indicaram que (116) representa uma nova classe de candidatos a protótipos de agentes anti-trombóticos, sintetizados a partir do safrol (17), caracterizando uma nova categoria de compostos-protótipos de agentes anti-trombóticos da classe dos *O*-benziléteres de oximas.

Eleito os TP como alvoterapêutico para tratamento de quadros anti-trombóticos, os compostos (116) (Cabral, 1993) e (115) (Fiddler e Lumley, 1990)

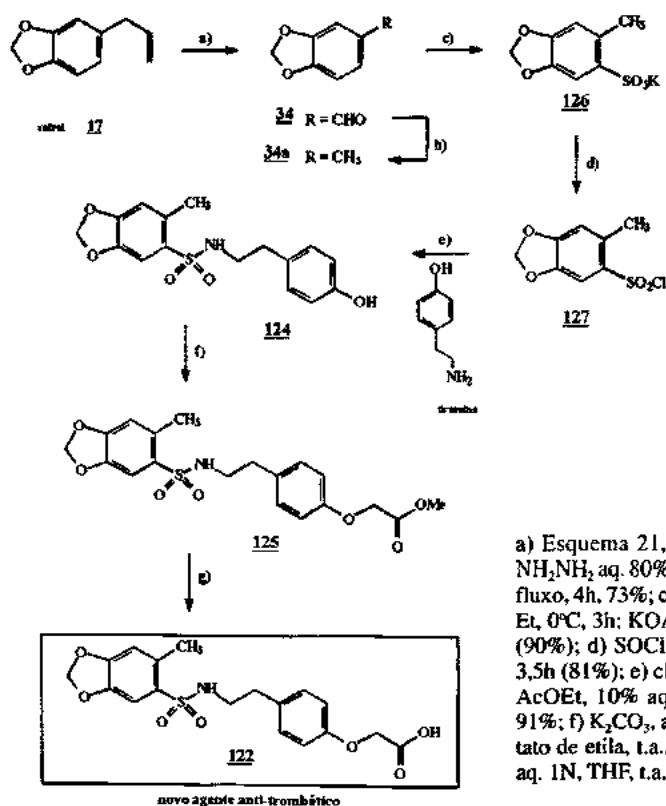
foram eleitos como estruturas-protótipos para o desenho dos novos derivados (122) e (123), candidatos a antagonistas de TP (Ormelli et al., 1997; Patschenke e Stegmeier, 1984). O desenho estrutural destes novos compostos resultou da hibridação molecular dos compostos-protótipos (114) e (115) (Patschenke e Stegmeier, 1984). Comparando-se suas estruturas, pode-se postular que a menor atividade anti-plaquetária de (114), *in vivo*, se dê pela presença da unidade fenóxi-acética que representa um sítio de fácil metabolização. Neste contexto, foi planejado o composto (122) para apresentar propriedades TPant, como híbrido de (114) e (115) (Smith III e Lefer, 1988) (esquema 31). Estudos de modelagem deste composto, por mecânica molecular, comparando-o ao sulotrobano (114), evidenciaram um adequado índice de similaridade molecular, sobretudo quanto aos aspectos conformacionais envolvidos, que asseguravam a distância adequada para a interação de (122) no sítio receptor, considerando-se o modelo desenvolvido por Albuquerque e colaboradores (1995). Este novo derivado (122) foi obtido a partir do safrol (17) empregando-se a metodologia sintética descrita no esquema 32 (Ormelli et al., 1997; Yanagisawa et al., 1987).

No intuito de se investigar a contribuição da sub-unidade fenóxi-acética ao perfil anti-trombótico de (122), o derivado α -metilado (123) foi desenhado como novo análogo metabolicamente *hard* de (122) (Ormelli et al., 1997; Yanagisawa et al., 1987), uma vez que a introdução do grupamento metila introduz fatores estéricos de restrição ao acesso de enzimas oxidativas hepáticas, responsáveis pela oxidação do metileno metabolicamente reativo α -carboxila, resultando na O-desalquilação com perda da função ácido carboxílico, farmacoforicamente importante à atividade pretendida. A metodologia sintética empregada na preparação de (123), a partir do safrol (17), explorou a sulfonamida (124) como intermediário-chave e está descrita no esquema 33 (Yanagisawa et al., 1987).



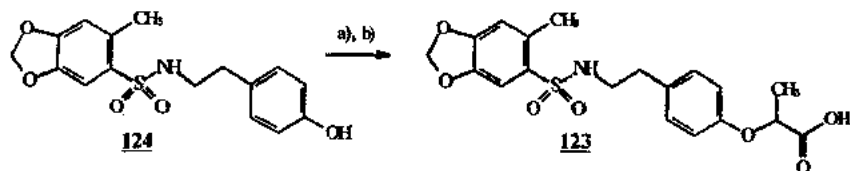
Esquema 31. Planejamento para obtenção de um novo protótipo de agente anti-trombótico (122)

Os resultados da avaliação das propriedades anti-agregante plaquetárias de (122), *ex-vivo*, indicou para este composto, IC_{50} de 329 μM no ensaio induzido por AA e, ainda, atividade anti-plaquetária no bioensaio induzido pelo composto U-46619, empregado como agonista do receptor de TXA_2 (Lima et al., 1999). Neste ensaio farmacológico o derivado α -metilado (123) mostrou-se praticamente inativo, indicando que a introdução do grupamento metila causa restrição estérica à interação do grupamento farmacofórico carboxilato com os receptores TP (Lima et al., 1999). Estes resultados confirmam o perfil anti-agregante plaquetário de (122), representando um novo derivado aril-sulfonamídico com ação anti-trombótica, provavelmente em nível de TP (Yanagisawa et al., 1987).



a) Esquema 21, itens a,b; b) KOH, NH_2NH_2 aq. 80%, $HOCH_2CH_2OH$, refluxo, 4h, 73%; c) H_2SO_4 , Ac_2O , $AcOEt$, 0°C, 3h; $KOAc$, $EtOH$, t.a., 30min (90%); d) $SOCl_2$, DMF (cat.), 60°C, 3,5h (81%); e) cloridrato de tiramina, $AcOEt$, 10% aq. $NaHCO_3$, t.a., 2h, 91%; f) K_2CO_3 , acetona, 2-bromoacetato de etila, t.a., 24h, 37%; g) $LiOH$ aq. 1N, THF, t.a., 1h, 85%.

Esquema 32. Síntese do novo agente anti-trombótico (122)



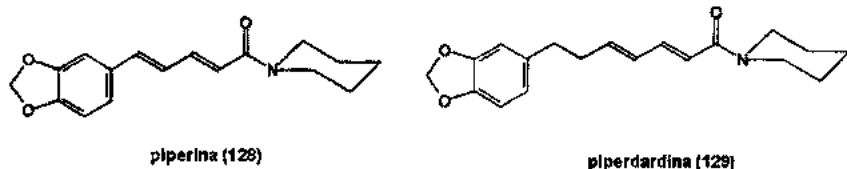
a) K_2CO_3 , acetona, 2-bromopropionato de metila, t.a., 36h (74%); b) LiOH aq. 1N, THF, t.a., 1h, 85% (62%).

Esquema 33. Síntese do novo derivado anti-trombótico (123) a partir da sulfonamida intermediária (124)

8. SÍNTESE DE PIPERAMIDAS NATURAIS E ANÁLOGOS

Espécies do gênero *Piper* são amplamente utilizadas na medicina popular e dentre as atividades biológicas identificadas neste gênero encontram-se suas propriedades antitumorais (Duh et al., 1990).

Recentemente, foi descrito o isolamento e a caracterização estrutural de amidas de *Piper tuberculatum* Jacq. (Piperaceae), identificadas como piperina (128) e piperdardina (129). Triagem das propriedades farmacológicas destas substâncias identificaram importantes efeitos hipotensores (Araújo-Jr, 1996; Araújo-Jr et al., 1997).



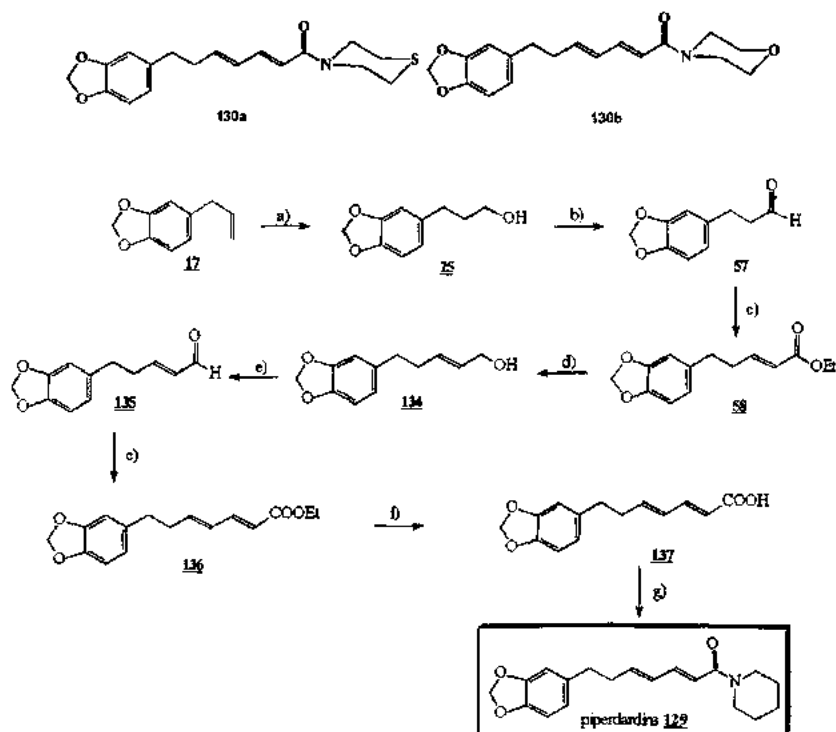
piperina (128)

piperdardina (129)

A importância do perfil farmacológico identificado, aliado à necessidade de estudar-se o mecanismo farmacológico destes efeitos, motivaram a síntese da piperdardina (129) a partir do safrol (17). A síntese e transformações de outras amidas de *Piper* também foram objeto de recentes relatos (Das et al., 1998; Naskar et al., 1998).

A síntese da piperdardina (129) está descrita no esquema 34. A primeira etapa da metodologia sintética empregada consistiu na funcionalização da posição terminal da ligação dupla do safrol (17), utilizando-se a clássica sequência hidroboração-oxidação (Brown e Subba Rao, 1959). Este método tem sido amplamente utilizado por Barreiro e colaboradores (1985) para a obtenção do álcool (25). Oxidação com PCC forneceu o aldeído correspondente (57), em 70% de rendimento (Corey e Suggs, 1975). A etapa seguinte da rota sintética consistiu na bis-homologação da cadeia alifática de (57), o que foi realizada utilizando-se a reação de Wadsworth-Emmons-Horner (Wadsworth e Emmons, 1961), por tratamento de

(57) com hidreto de potássio seguido do sal sódico do fosfonoacetato de trietila. Este procedimento forneceu, como esperado, o éster (*E*)-58 em 78% de rendimento. A partir deste intermediário, aplicou-se a mesma sequência de bis-homologação diastereosseletiva, convertendo-se inicialmente o éster (58) ao correspondente álcool alílico (134) com DIBAL. O álcool (134) foi então submetido à reação de oxidação com dióxido de manganês produzindo o aldeído α,β -insaturado (135), em rendimento de 87%. Caracterizada espectroscopicamente a configuração (*E*) da insaturação de (135), este aldeído foi novamente submetido às condições da reação de Wadsworth-Emmons-Horner, produzindo, desta feita o éster $\alpha,\beta,\gamma,\delta$ -insaturado (136). Finalmente a piperdardina (129) pôde ser obtida em 21% de rendimento global por hidrólise inicial do éster (136), utilizando-se uma solução de hidróxido de lítio 1*N* em THF, obtendo-se o ácido correspondente (137), que foi tratado com SOCl₂, sob refluxo, durante uma hora e em seguida com piperidina à

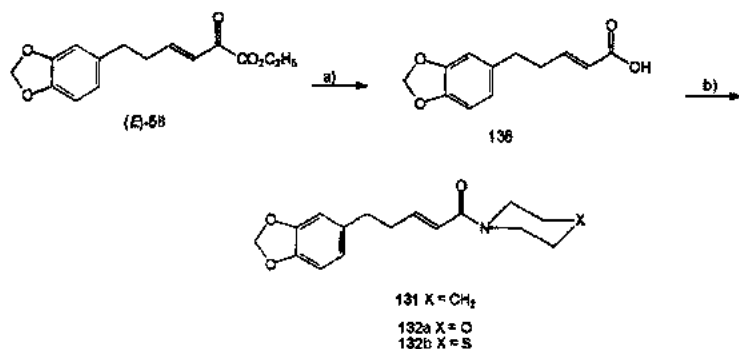


a) i. NaBH₄, BF₃·Et₂O, t.a., 1h; ii. H₂O₂ 30%, NaOH aq., refluxo, 12h (79%); b) PCC, CH₂Cl₂, t.a., 1h (70%); trietilfosfonoacetato, KH, DME, -78°C, 1h (78%); d) DIBAL, THF, -78°C, 2h (87%); e) MnO₂, THF, refluxo, 6h (87%); f) LiOH, THF, MeOH, H₂O, t.a. (98%); g) piperidina, CH₂Cl₂, t.a., 30min. (75%).

Esquema 34. Síntese da piperdardina (129) a partir do safrol.

temperatura ambiente, fornecendo a piperdardina (129). Modificando-se a amina cíclica na etapa de formação da ligação amídica desta rota sintética, logrou-se obter isómeros da piperdardina (129), ilustrados pelos derivados (130a, 130b) (Araújo-Jr et al., 2001). O tio-análogo (130a) foi obtido em 23% de rendimento global utilizando-se a tiomorfolina como amina.

A rota sintética desenvolvida para a piperdardina (129) permitiu o acesso ao éster (58) que foi empregado como intermediário para a obtenção de novos análogos, vinílicos-inferiores, de (129), visando-se o estudo da relação entre a estrutura química e a atividade hipotensora observada nesta série de amidas naturais. Desta forma, os compostos (131, N-(4'-diidro)-piperoilpiperidina) e os isómeros (132a e 132b), foram sintetizados conforme ilustrado no esquema 35 (Araújo-Jr et al., 1999).



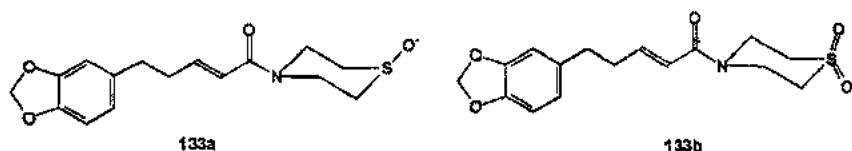
a) LiOH 1N, THF, t.a., 4h, 94%; b) 1- SOCl₂, refluxo, 1h, 2- amina respectiva, CH₂Cl₂, t.a., 30min, 68% (131), 88% (132a), 80% (132b).

Esquema 35. Síntese dos análogos (131) e (132)

A nova amida (131), análogo vinílico inferior da piperdardina (129), planejada por simplificação molecular deste produto natural, representa, ao mesmo tempo um análogo diidrogenado da piperina (128), o segundo componente químico principal isolado de *Piper tuberculatum* Jacq. (Piperaceae) (Araújo-Jr, 1996; Araújo-Jr et al., 1997).

Estes compostos (131-132) quando avaliados farmacologicamente, apresentaram potente ação cardiodepressora *in vivo*, determinada no modelo de medida da pressão arterial em ratos normotensos, acordados e em livre movimentação, e potente vasodilatação em anéis isolados de aorta de rato (Araújo-Jr, 2001). Dentre estes, o composto (132b) apresentou o melhor perfil de atividade em termos de potência. As atividades hipotensora e bradicárdica promovidas por esta classe de compostos envolvem a participação de um componente vagal, uma vez que alguns efeitos foram abolidos ou inibidos após bivaotomia lateral e administração de atropina (Araújo-Jr, 2001; Cunha et al., 1998).

Cabe destacar que modificações no padrão de oxidação do átomo de enxofre terminal do composto mais ativo (i.e. 132b), e.g. (133a, 133b) reduziram significativamente a cardioatividade observada.



Em sequência, visando-se a otimização da cardioatividade observada nesta nova série de derivados, investigou-se a síntese de novos análogos (139-144), estruturalmente planejados por simplificação molecular dos protótipos (131-132) (figura 3).

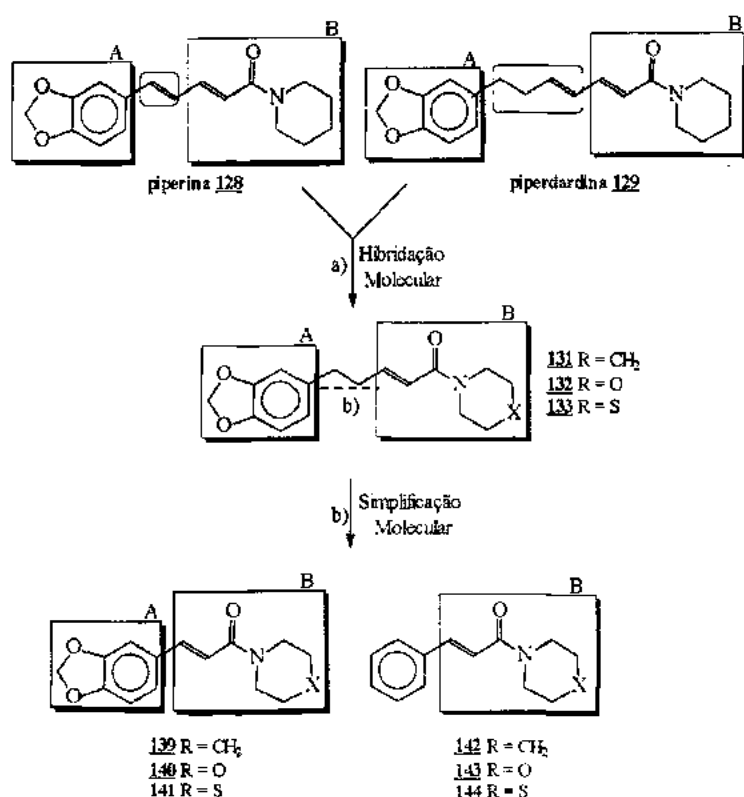
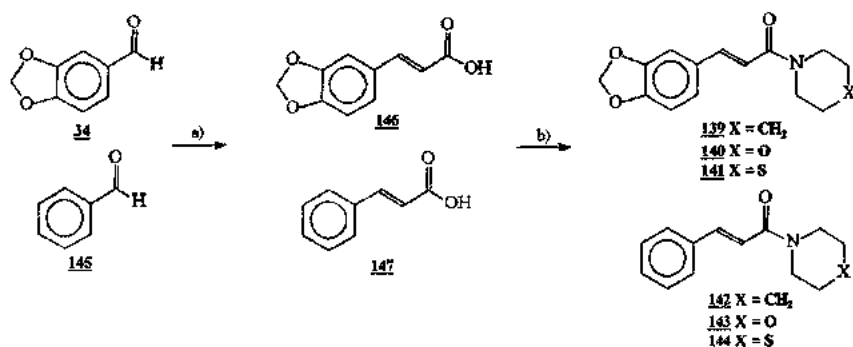


Figura 3. Relação isostérica entre as piperamidas (128 e 129) e os análogos sintéticos (131-133), planejados por hibridação molecular.

Os novos análogos (139-144) foram estruturalmente planejados no intuito de avaliar-se o efeito das modificações do anel benzodioxola e da distância entre o anel aromático e a sub-unidade amídica nas propriedades hipotensoras observadas.

A síntese dos novos derivados (139-144) empregou metodologia clássica descrita no esquema 36.

A partir dos aldeídos aromáticos (34) e (145), empregando-se a condensação malônica, obtiveram-se os ácidos 3',4'-metilenodióxi-cinâmico (146) e cinâmico (147), de configuração *E* em nível da ligação dupla. Aplicando-se a mesma estratégia sintética anterior, obtiveram-se as amidas isostéricas desejadas (139-144), em rendimento global de cerca de 80% (Duarte et al., 1999).



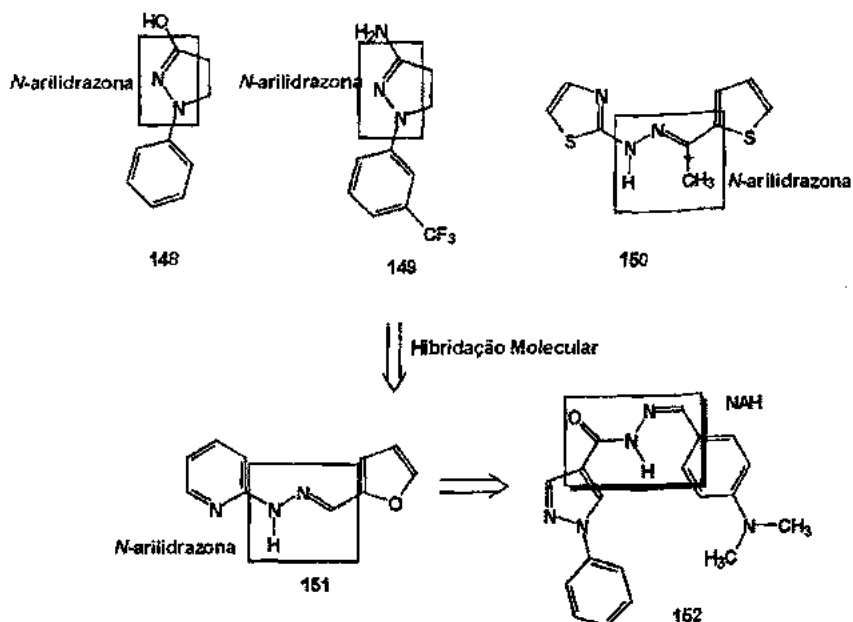
a) ácido malônico, piridina, piperidina, refluxo, 70°C, 1h (94, 95%); b) 1. SOCl₂, refluxo, 1h; 2. amina cíclica, CH₂Cl₂, t.a., 30min, 80-90%.

Esquema 36. Síntese dos análogos de piperamidas (139-144).

A investigação da cardioatividade destes novos análogos, empregando-se os mesmos protocolos farmacológicos não lograram a obtenção de nenhum derivado com atividade superior a (132b).

9. SÍNTESE DE NOVOS DERIVADOS *N*-ACILIDRAZÔNICOS (NAH) E ISÓSTEROS A PARTIR DO SAFROL

Recentes resultados de estudos de hibridação molecular de derivados ativos sobre a PGHS e a 5-LO [e.g. fenidona (148), BW-755 (149) e CBS-1108 (150) (Bhatia et al., 1996)] visando identificar-se novos padrões moleculares de substâncias bioativas, permitiram a descoberta de nova classe de agentes anti-agregantes plaquetários (e.g. 151) (Todeschini et al., 1998) e analgésicos (e.g. 152) (Matheus et al., 1991), em que a sub-unidade *N*-acilarilidrazona (NAH) foi identificada como principal farmacóforo (esquema 37).

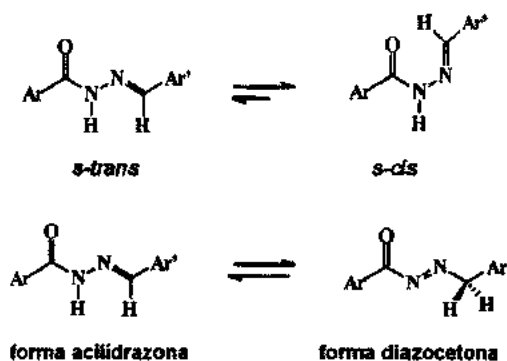


Esquema 37. Nova classe de agentes anti-agregantes plaquetários (**151** e **152**)

Os bioensaios realizados com estas substâncias, em que a natureza dos substituintes do anel fenílico (*W*) da unidade imínica foi definida de forma a variarem-se as contribuições eletrônicas e a natureza hidrofóbica desta parte da molécula, identificaram o novo derivado acilidrazônico *para*-dimetilaminofenilado (**152**) como o mais atraente, com propriedades analgésicas e anti-inflamatórias (Silveira et al., 1991).

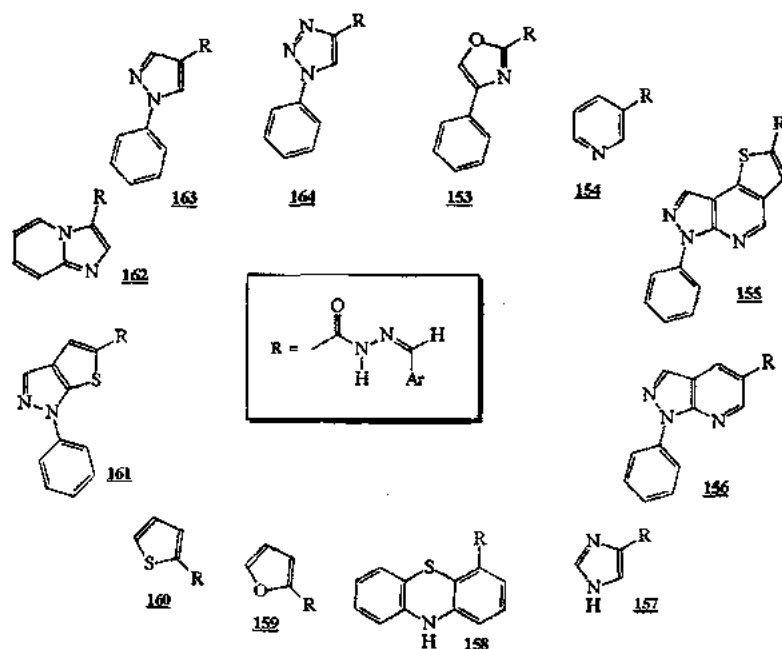
A predominância do tautômero imínico e a configuração relativa da ligação dupla $\text{N}=\text{C}$ nesta classe de derivados foi determinada pela análise cuidadosa de suas propriedades espectroscópicas, que evidenciaram forte absorção no espectro IV a 3200 cm^{-1} (N-H), associada à presença de sinais simples nos espectros de RMN ^1H e ^{13}C em δ 8,5-9,0 e 144,2-148,5, respectivamente, correspondendo ao C-H imínico, o que exclui a predominância da forma diazo-cetona e identifica a configuração da ligação dupla $\text{N}=\text{C}$ como (*E*) (Santos et al., 1998).

Estudos de modelagem molecular, por mecânica, reiteraram a predominância da configuração (*E*) da insaturação, assim como permitiram evidências da estabilidade relativa das conformações (esquema 38) da cadeia NAH , em função do padrão de substituição dos diversos núcleos isósteros sintetizados.



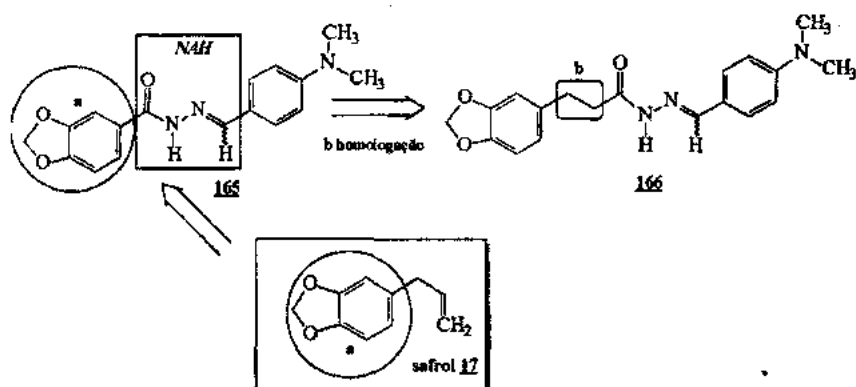
Esquema 38. Conformações de *N*-acilidrazonas (NAH) obtidas por mecânica molecular

Visando otimizar-se estas atividades e melhor compreender a SAR nesta classe de derivados bioativos, diversos padrões heteroarômáticos foram sintetizados (esquema 39), tendo os resultados da avaliação farmacológica destes novos compostos indicado um atraente perfil de atividade (Matheus et al., 1991; Dias et al., 1994; Gaston et al., 1996; Ribeiro et al., 1998).



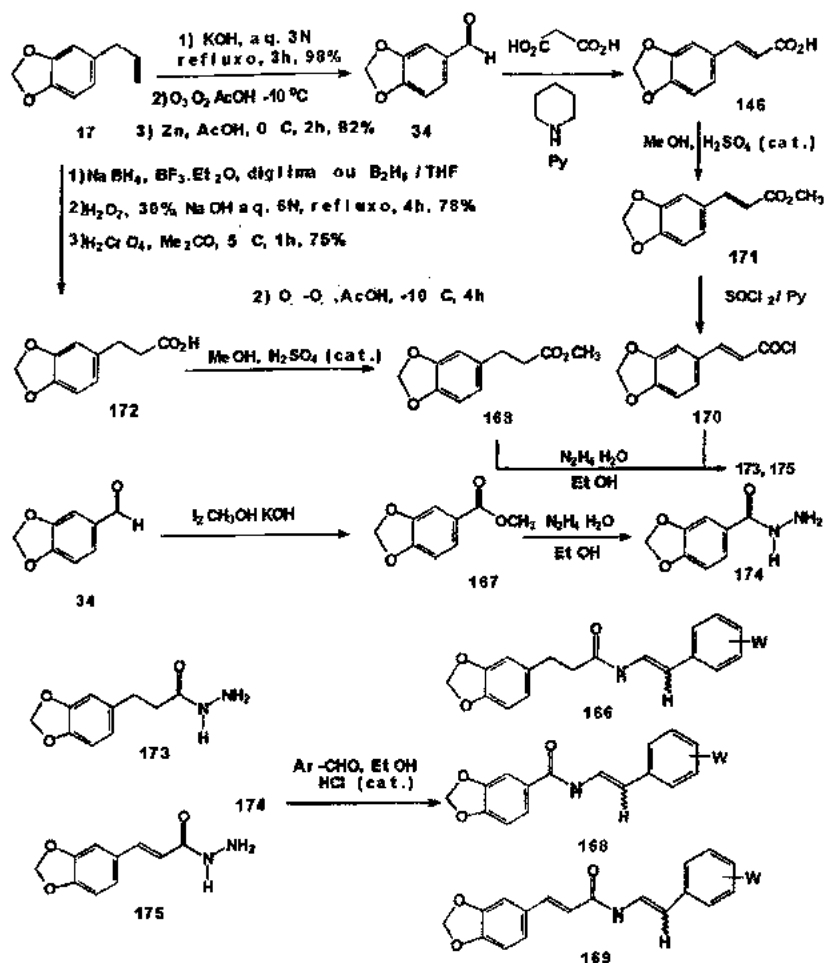
Esquema 39. Obtenção de novos padrões heteroarômáticos de *N*-acilidrazonas

Visando o estudo mais completo da SAR nestas séries, investigando-se a contribuição da sub-unidade heteroaromática para a atividade, compostos aromáticos não heterocíclicos foram sintetizados, explorando o safrol (17) como matéria-prima (Lima, 1998). Foram sintetizados diversos análogos com este padrão estrutural (p. ex. 165), onde variaram-se a sub-unidade a e a natureza do grupamento espaçador b, conforme ilustrado no esquema 40 (Ribeiro et al., 1998).



Esquema 40. Planejamento dos derivados acilhidrazônicos (165 e 166) a partir do safrol

Os derivados (165 e 166) foram sintetizados por hidrazinólise dos ésteres (167 e 168), respectivamente, preparados segundo o esquema 41, seguido de condensação ácido catalisada com os aldeídos adequados (Lima et al., 2000). A única exceção foi a série insaturada (169), na qual a hidrazida foi preparada a partir do respectivo cloreto de ácido (170), uma vez que não se logrou obter a quimiosseletividade desejada quando se tratou o éster correspondente (171) nas condições de hidrazinólise (Lima, 1998). Nestas condições, observou-se a competição da reação de adição do tipo Michael. O cloreto de ácido (170), por sua vez, foi preparado condensando o piperonal (34), oriundo do safrol (17), por condensação com ácido malônico nas condições de Knoevenagel-Doebner, originando o éster acrílico correspondente (171), que, tratado com cloreto de tionila, forneceu o cloreto de ácido desejado (170), cuja configuração-*E* da ligação dupla $\text{C}=\text{C}$ foi identificada por RMN ^1H (Santos et al., 1998). A oxidação do piperonal (34) nas condições de Yamada (iodo, hidróxido de potássio em metanol) (Yamada et al., 1992) foi o método de preparação do éster precursor da série (165) (Lima, 1998).



Esquema 41. Síntese dos novos derivados *N*-acilidrazônicos (165, 166 e 169) com propriedades analgésicas

Os resultados da avaliação farmacológica das propriedades analgésicas destas classes foram extremamente promissores, identificando o derivado (166a, W = *para*-dimetilamino) como o mais ativo, capaz de reduzir as contorções induzidas por solução aquosa 0,2% de ácido acético em camundongos, na ordem de 67% na concentração de 100 μM (Lima et al., 2000).

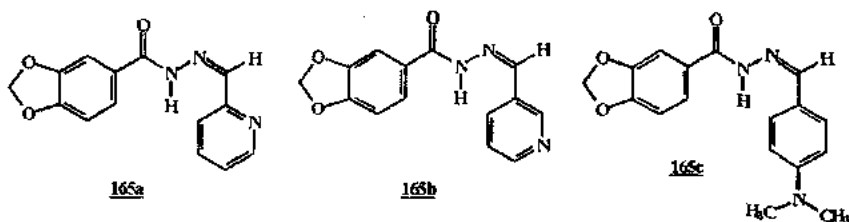
A influência do anel 1,3-benzodioxólico presente nas séries (165) e (166) na atividade analgésica observada para estes compostos foi investigada pela avaliação das séries isostéricas.

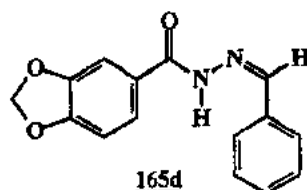
Da mesma maneira que para com as séries de derivados NAH anteriores, estas também tiveram a configuração da dupla ligação imínica determinada (Lima, 1998; Santos et al., 1998) e confirmada pelo estudo da estabilidade relativa na formação dos dois possíveis diastereoisômeros por modelagem molecular, usando o Hamiltoniano AM1 do programa MOPAC, versão 7,0 (Guimarães et al., 1999).

Cabe ressaltar que nos derivados com a unidade espaçadora C_2 saturada e insaturada, arilideno 3,4-metilenodióxi-fenilpropionilidrazina (**166**) e arilideno 3,4-metilenodióxi-fenilacrililidrazina (**169**), respectivamente, a configuração da ligação $C=N$ foi identificada como sendo distinta das séries em que a unidade acila está diretamente conjugada com o anel aromático ou heteroaromático. Nestes compostos, a configuração-*E* predomina (Lima et al., 2000). Estes resultados sugerem o envolvimento de fatores estereo-eletrônicos, em estudo no momento, na diastereosseletividade da etapa de condensação catalisada por ácido da hidrazida com carbonilas aldeídicas (Lima et al., 2000).

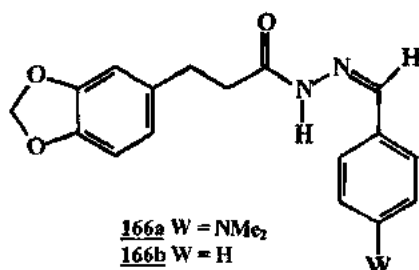
Os compostos foram bioensaiados nos protocolos clássicos, permitindo identificar-se os derivados da série benzodioxola, com o substituinte Ar-W, sendo, respectivamente, 2-piridinila (**165a**), 3-piridinila (**165b**) e *para*-dimetilaminofenila (**165c**) como promissores protótipos de agentes analgésicos periféricos reduzindo as contorções induzidas em camundongos, quando administrados por via oral na concentração 100 $\mu\text{mol/kg}$, em 54,7, 51,8 e 51,2%, respectivamente, o que representa um índice de potência 1,5 relativo à dipirona (Lima et al., 2000). Estes resultados reforçam o caráter farmacofórico também do substituinte imínico *para*-dimetilaminofenila na ação analgésica. Em termo de comparação, o análogo não-substituído correspondente (**165d**) apresentou-se menos potente (41%), quando administrado pela mesma via e nas mesmas concentrações (Lima et al., 2000).

A natureza periférica deste efeito analgésico foi confirmada quando se investigou uma possível ação central, dos derivados mais ativos, no ensaio da placa-quente (*hot-plate*), empregando-se morfina como padrão (Lima et al., 2000).

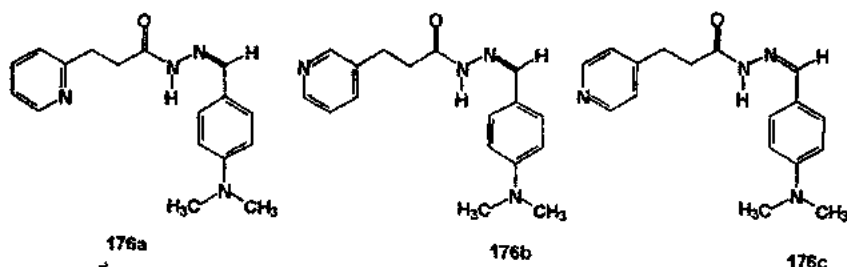




A bis-homologação, resultante da introdução da unidade espaçadora C_2 , correspondendo aos derivados arilideno 3,4-metilenodióxi-fenilpropionilidrazina (**166**), mais flexíveis, potencializou a atividade analgésica do derivado *para*-dimetilaminofenilado, conforme ilustraram os resultados do composto (**166a**), que reduziu em 67,1% as contorções induzidas em camundongos, quando administrado por via oral na dose de 100 $\mu\text{mol/kg}$ (Lima et al., 2000). Entretanto, este efeito de potencialização da atividade analgésica, pela flexibilização conformacional, somente se mostrou eficaz nos derivados possuindo o grupamento *para*-dimetilaminofenila, pois o derivado não substituído (**166b**, $W = H$) mostrou-se menos ativo (Lima et al., 2000).

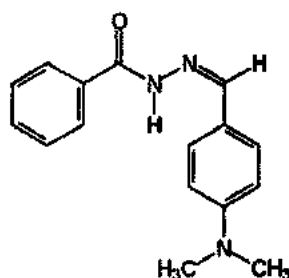


Outrossim, na série de isómeros piridínicos, *orto*-, *meta*- e *para*- (**176a**, **176b**, **176c**) a influência do espaçador C_2 também não se verificou (Lima et al., 2000).



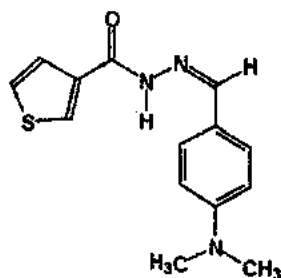
A contribuição da unidade 3,4-benzodioxola da série (**165**) para a atividade analgésica foi investigada, também, quando se confrontou a atividade

analgésica dos derivados arilideno benzoilidrazina (177) com o correspondente análogo benzodioxólico (165c). Esta simplificação molecular mostrou-se deletéria para a atividade analgésica como evidenciado pelo derivado (177), que, praticamente, não apresentou atividade quando ensaiado nas mesmas concentrações que (165c) (Lima et al., 2000).

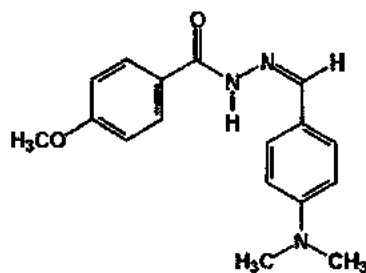


177

Estes resultados reafirmam a contribuição farmacofórica do grupamento *para*-dimetilaminofenila da subunidade imínica para a atividade analgésica e indicam que seu caráter doador de ligação-H é um fator estrutural provavelmente relevante para esta atividade. Ademais, indicam, ainda, que o biorreceptor envolvido não reconhece substituintes aceptores de ligação-H no anel acil-aromático, ao menos quando na posição *para*- do anel fenílico. Todavia, a ausência de atividade analgésica significativa para o composto tiofênico (178, esquema 42) sugere que a presença da ponte 3,4-benzodioxola, aceptora de ligação-H, possa representar, nesta série de compostos com 6 elétrons- π (165), um requisito estrutural acessório à atividade analgésica. Isto se verifica desde que esteja conjugada a outros fatores estruturais, como sugerem os resultados obtidos com (179, esquema 42), que, embora possua o substituinte *para*-metóxi-fenila na subunidade acila, não apresentou atividade analgésica.



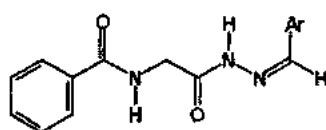
178



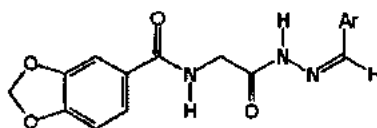
179

Esquema 42. Derivados NAH com a sub-unidade *para*-dimetilaminofenila

Curiosamente, a presença da insaturação na unidade espaçadora C_2 , levando à série viníloga (169), provocou redução drástica na atividade analgésica, conforme ilustrado pelo composto (169a, $W = para$ -dimetilamino, esquema 41), que se mostrou menos ativo que o derivado saturado correspondente (166a, esquema 41), o mais ativo nesta série. Estes resultados parecem indicar que a flexibilidade conformacional da cadeia NAH é um fator estrutural que potencializa esta atividade. Ademais, quando a unidade espaçadora mimetizou uma ligação peptídica (e.g. 180, 181), na qual podem ocorrer ligações-H intramoleculares capazes de orientarem conformacionalmente a cadeia que possui o principal grupamento farmacofórico, também não se observou atividade analgésica digna de nota.

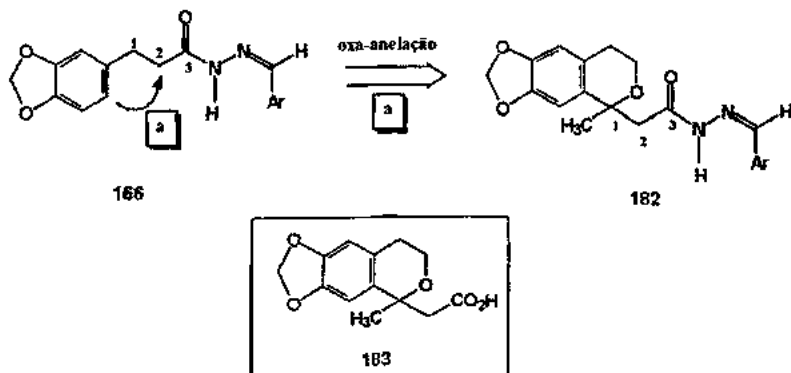


180

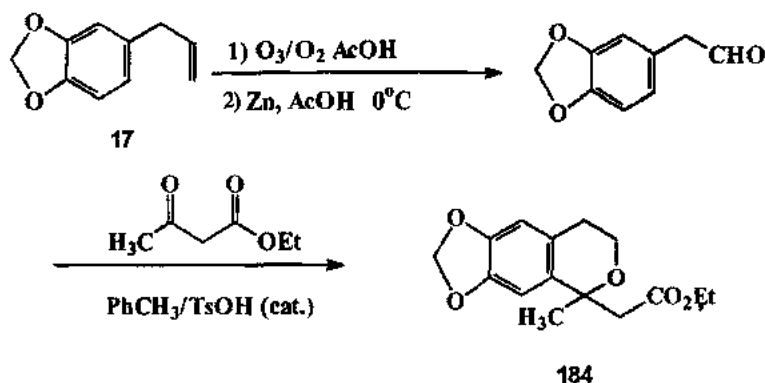


181

Visando compreender os aspectos conformacionais envolvidos na potencialização da atividade analgésica observada com a introdução da unidade espaçadora C_2 , saturada, foi introduzida uma restrição conformacional na cadeia NAH, mas mantendo a natureza sp^3 de sua unidade espaçadora. Este raciocínio conduziu à série isocromanilacetilarilidrazonas (182) (esquema 43) (Santos et al., 1997) cujos ácidos correspondentes (183) já haviam sido identificados como anti-inflamatórios (Silva, 1991; Silva e Barreiro, 1993). Estes derivados (182) foram sintetizados utilizando-se os ésteres (184), obtidos a partir do safrol (17), conforme ilustrado no esquema 44.

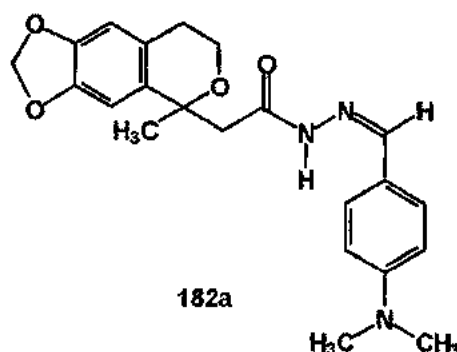


Esquema 43. Planejamento estrutural dos novos derivados isocromanilacetilarilidrazônicos (182).



Esquema 44. Síntese do éster isocromanílico (184) a partir do safrol

Os resultados obtidos na avaliação das propriedades analgésicas destes compostos (182) indicaram a maior atividade analgésica novamente para o derivado *para*-dimetilaminofenila substituído (182a), que reduziu as contorções induzidas em camundongos na ordem de 53,3%, quando administrado p.o. na concentração de 100 $\mu\text{mol/kg}$ (Santos et al., 1997).



Devido à existência do centro estereogênico em C-1 do anel isocromânico e à presença da insaturação imínica nesta série de derivados NAH realizaram-se cuidadosos estudos de RMN da mistura diastereoisomérica de cada composto (182), permitindo evidenciar a relação de 70:30 em favor do diastereoisômero-*E* (Santos et al., 1998).

Um estudo espectroscópico por RMN de ^1H e por mecânica molecular foi realizado visando-se a determinação da configuração relativa da ligação dupla $\text{C}=\text{N}$ nestes compostos (Santos et al., 1998). Os resultados obtidos indicaram que, na ampla maioria dos compostos NAH sintetizados da série (182), o diastereoisômero predominante tem a configuração-*(E)* (Santos et al., 1998),

o que foi reforçado pelos cálculos de mecânica molecular, realizados com diferentes membros destas classes, que indicaram para este diastereoisômero uma estabilização da ordem de cerca de 5 kcal/mol em relação ao isômero-(Z).

Adicionalmente, estudos de modelagem molecular desta série de NAH (182) indicaram que a existência de ligação de hidrogênio intramolecular, envolvendo *N*-11 e o *O*-3 (figura 4) explicaria a predominância da configuração 4*s* ao nível do centro estereogênico, no diastereoisômero majoritário (*E*), conforme sugere a análise dos dados do espectro de ^1H RMN (200 MHz) (Santos et al., 1998).

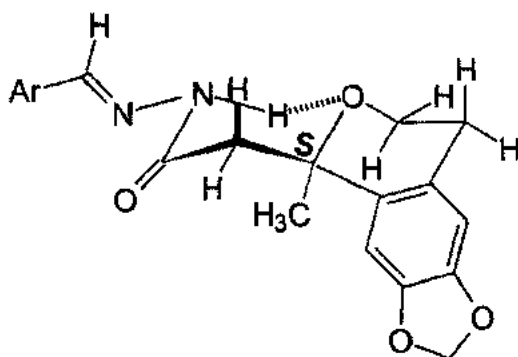
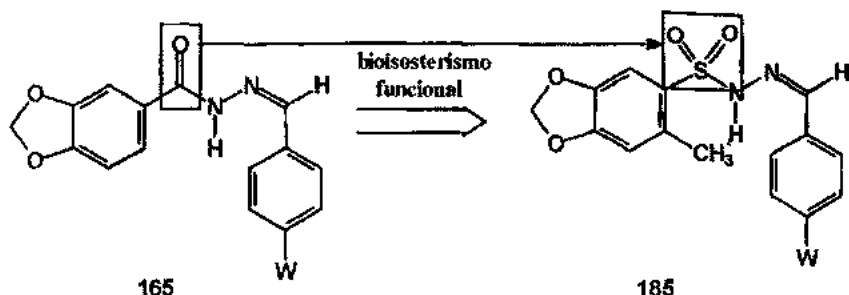


Figura 4. Visão conformacional de (182) evidenciando a ligação de hidrogênio intramolecular entre *N*-11 e *O*-3.

Os resultados farmacológicos obtidos com o derivado (182a) sugerem que a restrição conformacional introduzida pelo anel isocromânico nesta série pode estar mimetizando a conformação bioativa do composto (166a), possuindo a unidade espaçadora C₂.

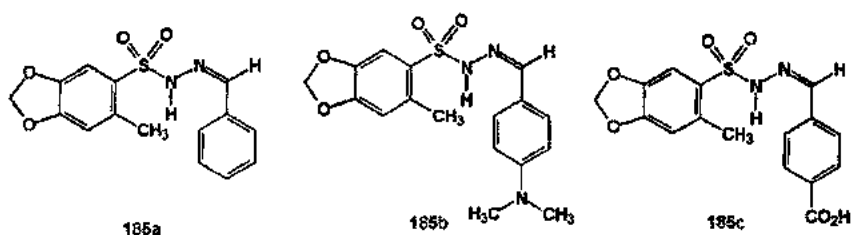
Finalmente, estudos visando à compreensão dos fatores estruturais envolvidos na resposta analgésica desta série de derivados NAH (165), originados no safrol (17), conduziram a investigar a contribuição da carbonila da função NAH, capaz de interagir com os receptores nociceptivos por meio de ligações-H, atuando como sítio aceptor-H. Desta forma, decidiu-se efetuar a troca isostérica funcional da carbonila dos derivados NAH (165) por um grupamento sulfona (Lima et al., 1999), de forma a favorecer as possibilidades de interaçõesceptoras de ligações-H (esquema 45). Desta forma, foram sintetizados os isósteros *N*-sulfonilidrazônicos (SAH) (185). Os resultados dos ensaios farmacológicos com a série (185) indicaram perfil analgésico similar aos derivados NAH correspondentes, confirmando, de um lado, a validade da troca isostérica realizada como estratégia de modificação molecular nesta clas-

se, e de outro, reiterando a possibilidade de interação desta funcionalidade com os receptores envolvidos na resposta analgésica mediante ligações-H.



Esquema 45. Bioisosterismo entre carbonila e sulfonila

A avaliação das propriedades analgésicas desta série de novos isósteros, permitiu evidenciar que os derivados (185a e 185b, W = H, NMe₂) não se apresentaram ativos, sendo o composto (185c, W = CO₂H) equipotente à indometacina empregada como padrão nestes ensaios (Lima et al., 1999).

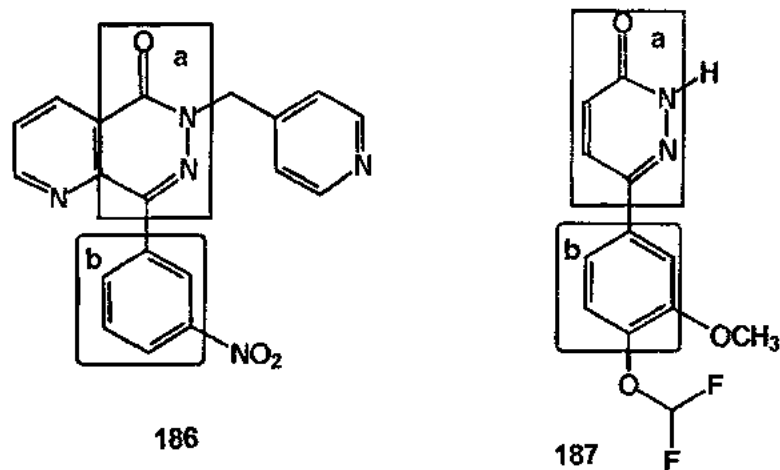


10. DESENVOLVIMENTO DE UM NOVO PROTÓTIPO DE FÁRMACO CARDIOTÔNICO

Entre as possíveis intervenções terapêuticas para o tratamento da asma, atualmente considerada como uma manifestação inflamatória, inibidores da enzima fosfodiesterase (PDE) têm-se destacado (Perry e Higgs, 1998). Esta classe de enzimas é responsável pela hidrólise do monofosfato cíclico de adenosina (cAMP e cGMP), segundos mensageiros envolvidos na regulação de diversas respostas celulares tais como secreção, metabolismo e contração. Atualmente, são conhecidas cerca de 11 isoformas de PDE, distribuídas em diferentes tecidos ou células como cérebro, neutrófilos, linfócitos-T, macrófagos, eosinófilos, onde desempenham distintos papéis funcionais. A isoforma PDE4, específica para cAMP, por exemplo, é aquela predominantemente

envolvida na resposta inflamatória da asma, sendo inibidores desta isoforma capazes de reduzir a produção de citocinas flogísticas e atenuarem a resposta inflamatória (Dal Piaz e Giovannoni, 2000; Giembyez, 2000; Soderling e Beavo, 2000; Montana e Dyke, 2001).

Entre os inibidores conhecidos da PDE4 encontram-se os derivados piridazinônicos sintéticos (186 e 187) (Ukena et al., 1995; Whilhelm et al., 1995; Bornouf, Pruniaux e Szilagyi, 1998;). O composto (186), da classe pirido[2,3-d]piridazinona, foi desenvolvido pelos laboratórios Syntex e apresenta IC_{50} de 8,50 nM para PDE4. O derivado piridazinônico (187), por sua vez, possui IC_{50} 4,70 nM para esta isoforma. Ademais, estes compostos têm manifestado importantes propriedades em modelos animais de asma, reduzindo a infiltração de neutrófilos.

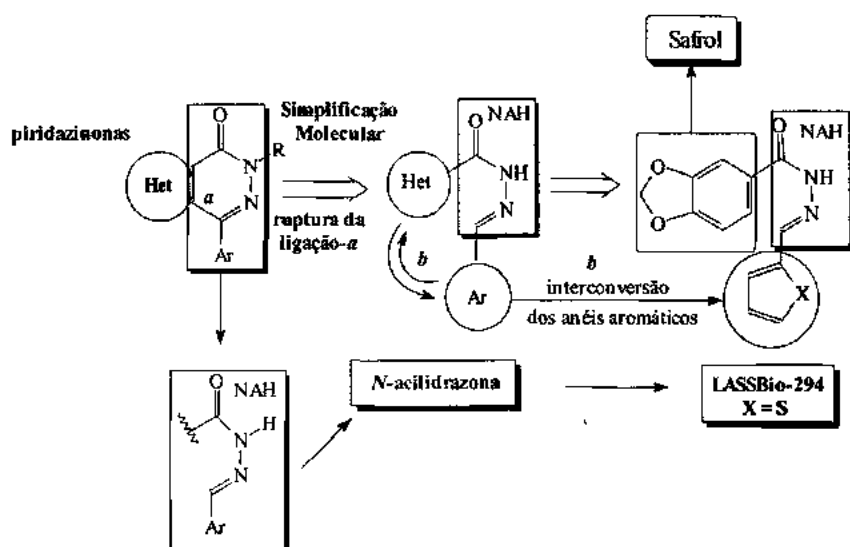


Esquema 46. Estruturas dos derivados piridazinônicos (186), (187) inibidores de PDE4.

A cuidadosa análise das estruturas de (186) e (187) (esquema 46) permitiu evidenciar-se a presença da sub-unidade *N*-acilidrazona (a) mascarada em ambos os compostos. No derivado piridopirazinônico (186) a função NAH encontra-se internalizada no sistema heterocíclico, enquanto que na zardaverina (187) integra o anel piridazinônico. Em ambos os derivados ativos sobre a isoforma 4 de PDE, a sub-unidade imínica da função NAH mascarada encontra-se substituída por um anel benzênico substituído (b) (esquema 46).

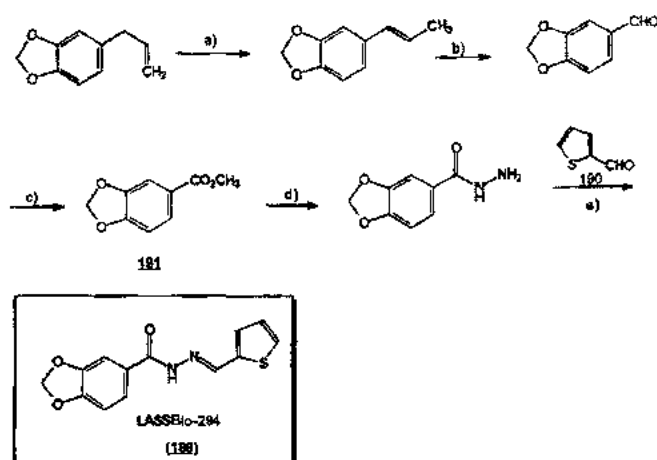
Aplicando-se a estratégia de simplificação molecular nestes compostos (186 e 187) pela ruptura da ligação *a* (esquema 47), a função NAH fica evidenciada. Face a esta análise estrutural destes compostos ativos, foi investi-

gada a atividade PDE em derivados NAH, o que culminou com a descoberta do derivado cardioativo LASSBio-294 (188). A gênese estrutural desta substância, com propriedades farmacológicas marcantes, ilustrada no esquema 47, fundamentou-se na inversão dos substituintes aromáticos (*b*), de maneira a assegurar-se caráter estruturalmente original aos novos compostos planejados e reconhecendo-se a natureza ambidente da unidade benzodioxola presente no safrol, ao mesmo tempo aceptora-H e hidrofóbica, definiu-se o padrão de substituição aromática da sub-unidade acila enquanto que pelo bioisosterismo clássico de anéis identificou-se o anel tiofênico presente no LASSBio-294 (188).



Esquema 47. Esquema do planejamento estrutural de LASSBio-294

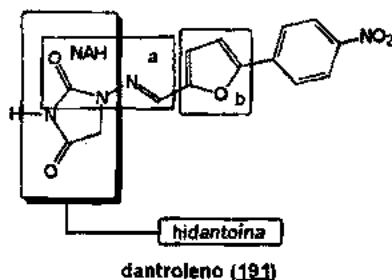
A metodologia sintética empregada para a obtenção do LASSBio-294, fundamentou-se naquela clássica, utilizada para a síntese de todas as séries de derivados NAH obtidos no LASSBio (Barreiro et al, 2002), a saber: condensação ácido catalizada da hidrazida correspondente com os aldeídos de escolha. No caso do LASSBio-294 utilizou-se o 2-formiltiofeno (190) que produziu o derivado desejado em 56% de rendimento global a partir do éster (191) (esquema 48) (Albuquerque, Barreiro e Sudo, 1999; Lima et al., 2000).



a) KOH aq. 3N, tBuOH, t.a. b) O_3-O_2 , AcOH, $-10^\circ C$, 4h; Zn, AcOH, $0^\circ C$, 2h; c) I_2 , KOH, MeOH, t.a. d) $N_2H_4 \cdot H_2O$, EtOH; e) 182, EtOH, HCl cat.

Esquema 48. Rota sintética do derivado LASSBio-294 (188).

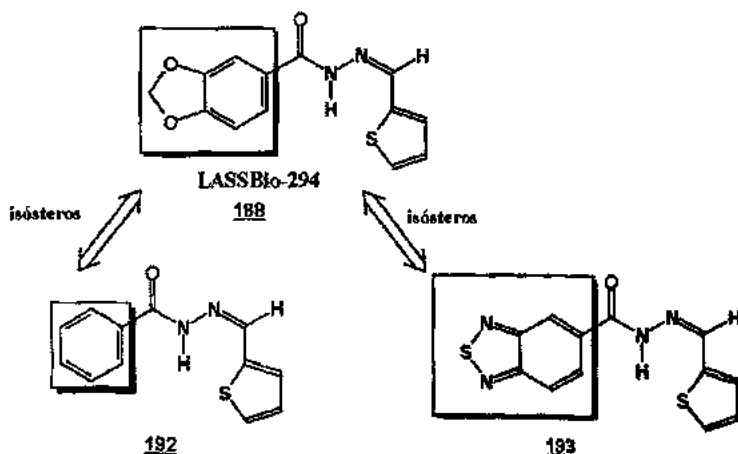
Uma investigação da literatura permitiu a identificação dos efeitos do dantroleno (191) sobre o catabolismo do Ca^{++} (Ward, Chaffman e Sorkin, 1986; Khalaj et al., 1998; Zhao et al., 2001). A análise da estrutura deste composto hidantoínico (191) permitiu a identificação da função NAH incluída no anel imidazolinodifênico, substituída na insaturação imínica pelo anel 2-furano. Esta análise estrutural estimulou a investigar, também, os efeitos do LASSBio-294 no metabolismo celular do Ca^{++} visto a natureza isostérica dos substituintes da sub-unidade imínica em ambos compostos. Curiosamente, o isómero 2-furânico do LASSBio-294 não apresentou o mesmo perfil farmacológico identificado para este último composto.



Considerando-se o papel crucial do Ca^{++} do retículo sarcoplasmático na função muscular esquelética, relacionado com a hipertermia maligna e distrofia muscular, além do efeito cardioprotetor que a modulação do Ca^{++} citosólico permite (Ruegg e Gillis, 1999; Berchtold, Brinkmeier e Muntener, 2000; Zucchi, et al., 2001), o derivado LASSBio-294 (188) foi farmacologicamente avaliado, evidenciando-se suas propriedades inotrópicas, cardioprotetoras e seus efeitos na modulação do Ca^{++} sarcoplasmático (Sudo, Zapata-Sudo e Barreiro, 2001), conforme antecipado teoricamente.

Os resultados da avaliação farmacológica deste novo derivado *N*-acilidrazônico (188) evidenciou suas importantes propriedades no catabolismo do Ca^{++} celular, caracterizando um perfil vasodilatador (Silva et al., 2002) com propriedades inotrópicas positivas (Gonzalez-Serratos et al., 2001) que o classificaram como um candidato a novo fármaco para o tratamento da insuficiência cardíaca, bem como quadros onde há perda de capacidade muscular, como a distrofia muscular ou a fadiga (Albuquerque, Barreiro e Sudo, 1999).

Estudos visando a otimização destas atraentes propriedades farmacológicas do LASSBio-294 permitiram evidenciar a importância do anel benzodiol, uma vez que tanto o isômero fenílico (192), como o isômero com o sistema benzo[c][1,2,5]tiadiazólico (193) (esquema 49), não apresentaram as mesmas propriedades.



Esquema 49. Isômeros de LASSBio-294

Estes resultados conferem ao novo derivado LASSBio-294 (188) um atraente perfil farmacológico, demonstrando que substâncias estruturalmente simples podem representar, de fato, importantes alvos como candidatos a protótipos de novos fármacos.

11. CONCLUSÕES

Neste capítulo foi discutida parte dos resultados obtidos no Laboratório de Avaliação e Síntese de Substâncias Bioativas (LASSBio) da Faculdade de Farmácia da UFRJ na síntese de novas substâncias de interesse terapêutico empregando produto natural brasileiro abundante, em particular o safrol, principal componente químico do óleo de sassafrás ou de *Piper longum* L. Foram descritos novos análogos de agentes antiinflamatórios clássicos e novos candidatos a agentes NSAI de segunda geração, seletivos sobre a isoforma PGHS-2. Derivados prostanoideais foram sintetizados a partir deste produto natural em ótimos rendimentos globais. O safrol foi empregado na síntese de novos análogos de piperamidas naturais que se apresentaram cardioativas, superiores aos produtos naturais, protótipos. A estratégia da simplificação molecular permitiu a descoberta do composto (133), derivado ativo na pressão arterial e na musculatura vascular, perfil farmacológico adequado ao seu emprego como fármaco. Ademais, novos agentes anti-trombóticos, duais ou não, foram desenhados e obtidos a partir do safrol, comprovando a importância do emprego de produtos naturais abundantes na síntese de substâncias de interesse farmacêutico.

Finalmente, novos derivados NAH bioativos foram obtidos a partir do safrol, destacando-se o LASSBio-294 (188), objeto de depósito de patente face às propriedades farmacológicas que possui e que representam perfil terapêutico único, útil para uso como agente cardioativo devido aos seus efeitos inotrópicos, desprovido dos típicos efeitos colaterais dos glicosídeos cardíacos. Ademais, esta substância possui propriedades úteis no tratamento de neurodistrofias, assegurando um perfil terapêutico inédito que comprova a validade da estratégia de desenho racional de novos candidatos a protótipos de fármacos descrita neste capítulo a partir de produtos naturais, desde que o planejamento molecular seja fundamentado nos princípios da Química Medicinal.

12. AGRADECIMENTOS

Os autores (especialmente EJB) agradecem o apoio financeiro dos órgãos de fomento, que ao longo dos últimos anos têm apoiado os projetos de pesquisa que resultaram nos resultados aqui descritos. Especiais agradecimentos são feitos aos nossos colaboradores, pós-doutores e estudantes de iniciação científica e pós-graduação, que desenvolveram no LASSBio, com dedicação e tenacidade, os projetos cujos resultados estão descritos neste capítulo.

13. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACKERLEY, N.; BREWSTER, A. G.; BROWN, G. R.; CLAEKE, D. S.; FOUBISTER, A. J.; GRIFFIN, S. J.; HUDSON, J. A.; SMITHERS, M. J.; WHITTAMMO-

- RE, P. R. O. A novel-approach to dual-acting thromboxane receptor antagonist and synthase inhibitors based on the link of 1,3-dioxane-thromboxane receptor antagonists and 1,3-dioxane-thromboxane synthase inhibitors. *J. Med. Chem.*, v. 38, p. 1608, 1995.
- ALBUQUERQUE, E. X.; BARREIRO, E. J.; SUDO, R. T. *US Patent Office*, Provisório Number 60-525,352, 1999.
- ALBUQUERQUE, M. G.; RODRIGUES, C. R.; ALENCASTRO, R. B.; BARREIRO, E. J. Design of new potential 5-lipoxygenase inhibitors, dual thromboxane synthase inhibitors, and thromboxane α_2 receptor antagonists by AM1. *Int. J. Quantum Chem.: Quantum Biol. Symp.*, v. 22, p. 181, 1995.
- ARAÚJO-JR., J. X. *Elucidação estrutural dos constituintes químicos de Piper tuberculatum. Jacq. var. tuberculatum e avaliação sobre o sistema cardiovascular de uma mistura contendo duas alcaloides: piperdardina e piperina.* João Pessoa: Laboratório de Tecnologia Farmacêutica, Universidade Federal da Paraíba, 1996. (Tese de Mestrado).
- ARAÚJO-JR., J. X.; BARREIRO, E. J.; PARENTE, J. P.; FRAGA, C. A. M. Synthesis of piperamides and new analogues from natural safrole. *Synthetic Commun.*, v. 29, p. 263, 1999.
- ARAÚJO-JR., J. X.; DA-CUNHA, E. V. L.; CHAVES, M. C. O.; GRAY, A. I. Piperdardine, a Piperidine Alkaloid from *Piper tuberculatum*. *Phytochemistry*, v. 44, p. 559, 1997.
- ARAÚJO-JR., J. X.; DUARTE, C. M.; CHAVES, M. C. O.; PARENTE, J. P.; FRAGA, C. A. M.; BARREIRO, E. J. Synthesis of natural amide alkaloid piperdardine and a new bioactive analogue. *Synth. Commun.*, v. 31, p. 117, 2001.
- AVERY, M. A.; CHONG, W. K. M.; JENNINGS-WHITE, C. Stereoselective Total Synthesis of (+)-Artemisinin, the antimalarial constituent of *Artemisia annua* L.. *J. Am. Chem. Soc.*, v. 114, p. 974, 1992.
- AVERY, M. A.; JENNINGS-WHITE, C.; CHING, W. K. M. Total Synthesis of (+)-Artemisinin and (+)-9-demethylartemisinin. *Tetrahedron Lett.*, v. 28, p. 4629, 1987.
- BARREIRA, E. S.; MONTE, F. J. Q., Obtenção de dímero tipo arilindano em meio básico, atribuição inequívoca dos deslocamentos químicos dos átomos de hidrogênio e carbono, *Quím. Nova*, v. 18, p. 245, 1995.
- BARREIRO, E. J. Prostaglandinas. *Quím. Nova*, v. 2, p. 99, 1979.
- _____. Utilização de produtos naturais abundantes na síntese de substâncias biologicamente ativas: resultados. *Rev. Bras. Farm.*, v. 64, p. 113, 1983.
- _____. Síntese de novos prostanoídes. In: COMASSETO, V. J. (Ed.) *A química orgânica sintética no Brasil*. São Paulo: Universidade de São Paulo, 1987. p. 16.
- _____. Eicosanóides (Parte I). *Caderno de Farmácia*, v. 3, p. 67, 1987.
- _____. Eicosanóides (Parte II). *Caderno de Farmácia*, v. 4, p. 3, 1988.
- _____. Bioisosterismo: Importante estratégia de modificação molecular para o planejamento racional de medicamentos (Parte I). *Rev. Bras. Farm.*, v. 72, p. 2, 1991.
- _____. Bioisosterismo: Importante estratégia de modificação molecular para o planejamento racional de medicamentos (Parte II - Conclusão). *Rev. Bras. Farm.*, v. 72, p. 34, 1991.
- BARREIRO, E. J.; COSTA, P. R. R.; BARROS, P. R. V. R.; QUEIROZ, W. M. An Improved Synthesis from Natural Safrole of Indole Derivatives Related to Indomethacin. *J. Chem. Research (M)*, p. 102, 1982.

- BARREIRO, E. J.; COSTA, P.R.R.; COELHO F.A.S.; DE FARIAS, F.M.C. Prostaglandin Analogues. 2 - Synthesis of New Prostanoid Derivatives from Saffrole Isolated from Sassafras Oil, *J. Chem. Res.*, (S), p. 220; (M) p. 2301, 1985.
- BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. M. A utilização do safrol, principal componente químico do óleo de sassafráz, na síntese de substâncias bioativas na cascata do ácido araquidônico: Anti-inflamatórios, Analgésicos e Anti-trombóticos. *Quím. Nova*, v. 22, p. 744, 1999.
- BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. M.; RODRIGUES, C. R.; MIRANDA, A. L. P. Química Medicinal de Derivados N-Acildiazônicos, Protótipos de Agentes Anti-inflamatórios, Analgésicos e Anti-trombóticos. *Quím. Nova*, v. 25, p. 129, 2002.
- BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. M.; ROMEIRO, N. C.; LAGES, A. S. Inibidores seletivos de Prostaglandina Endoperoxído sintase-2 (PGHS-2): nova estratégia para o tratamento da inflamação, *Quím. Nova*, v. 21, p. 761, 1998.
- BARREIRO, E. J.; GOMES, L. N. L. F. Prostaglandin Analogues. Synthesis of Tetrahomoprostaglandin Derivatives from Hydnocarpic Acid Isolated from Sapucaí Oil. *J. Chem. Res.*, (S) p. 312; (M) p. 2701, 1983.
- BEVILACQUA, M.; VAGO, T.; BALDI, G.; RENESTO, E.; DALLEGRI, F.; NORBIATO, G. Nimesulide Decreases Superoxide Production by Inhibiting Phosphodiesterase Type IV. *Eur. J. Pharmacol.*, v. 268, p. 415, 1994.
- BERCHTOLD, M. W.; BRINKMEIER, H.; MUNTENER, M. Calcium Ion in Skeletal Muscle: Its Crucial Role for Muscle function, Plasticity and Disease. *Physiol. Rev.*, v. 80, p. 1215, 2000.
- BHATIA, P. A.; BROOKS, C. D. W.; BASHA, A.; RATAJCZYK, J. D.; GUNN, B. P.; BOUSKS, J. B.; LANNI, C.; YOUNG, P. R.; BELL, R. L.; CARTER, G. W. 5-lipoxygenase inhibitors: Synthesis and structure-activity relationships of a series of 1-aryl-2H,4H-tetrahydro-1,2,4-triazin-3-ones. *J. Med. Chem.*, v. 39, p. 3938, 1996.
- BORCHERT, P.; WISLOCKI, P. G.; MILLER, J. A.; MILLER, E. C. The Metabolism of the Naturally Occurring Hepatocarcinogen Saffrole to 1'-Hydroxysaffrole and the Electrophilic Reactivity of 1'-Acetoxysaffrole. *Cancer Res.*, v. 33, p. 575, 1973a.
- BORCHERT, P.; MILLER, J. A.; MILLER, C. E.; SHIRES, T. K. 1'-Hydroxysaffrole, a Proximate Carcinogenic Metabolite of Saffrole in the Rat and Mouse. *Cancer Res.*, v. 33, p. 590, 1973b.
- BORNOUF, C.; PRUNIAUX, M.-P.; SLILAGYI, C. M. Phosphodiesterase 4 Inhibitors. *Ann. Rept. Med. Chem.*, v. 33, p. 91, 1998.
- BROWN, C. H.; SUBBA RAO, B. C. Hydroboration. I. The reaction of olefins with sodium borohydride-aluminum chloride. A convenient route to organoboranes and the anti-Markownikoff hydration of olefins. *J. Am. Chem. Soc.*, v. 81, p. 6423, 1959.
- CABRAL, L. M. *Síntese de novos análogos de agentes NSAÍ a partir do safrol*. Rio de Janeiro: Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 1993. (Tese de Mestrado).
- CABRAL, L. M.; BARREIRO, E. J. The Synthesis and Analgesic Properties of New Spiroisochromanil Acid Derivatives Synthesized from Natural Saffrole. *J. Heterocycl. Chem.*, v. 31, p. 959, 1995.
- CARVALHO, A. S.; FRAGA, C. A. M.; SILVA, K. C. M.; MIRANDA, A. L. P.; BARREIRO, E. J. Synthesis and Anti-Platelet Evaluation of New Tricyclic PAF Anta-

- gonists, Designed as Structurally Related to Tetrazepine Class-Web 2086. *J. Braz. Chem. Soc.*, v. 7, p. 247, 1996.
- CÉSAR, M. A. F. *Síntese e avaliação farmacológica de novo isômero do laxoprofeno a partir do safrol*. Rio de Janeiro: Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 1990. (Tese de Mestrado).
- CHAU, T. T.; WEICHMAN, B. M. Pemedolac - a novel and long-acting non-narcotic analgesic. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, v. 248, p. 907, 1989.
- CHAVES, J. L. Pimenta Longa Reativa o Safrol. *Quím. Derivados*, p. 40, 1994.
- COELHO, F. A. S.; COSTA, P. R. R.; FARIAS, F. M. C.; BARREIRO, E. J. Síntese de novas prostaglandinas aromáticas. III. Prostaglandinas mistas. *Ciência e Cultura*, v. 35, supl., p. 408 (62-D.2.5), 1983.
- COELHO, F. A. S.; COSTA, P. R. R.; FARIAS, F. M. C.; BARREIRO, E. J. Análogos de prostaglandinas, síntese de novos derivados de tromboxanas a partir do safrol. *Quím. Nova*, v. 7, p. 113, 1984.
- COLLINS, P. W.; DAJANI, E. Z.; DRISKILL, D. R.; BRUHN, M. S.; JUNG, C. J.; PAPPO, R. Synthesis and Gastric Antisecretory Properties of 15-Deoxy-16-Hydroxyprostaglandin E Analogues. *J. Med. Chem.*, v. 20, p. 1152, 1977.
- COREY, E. J.; SUGGS, J. W. Pyridinium chlorochromate. An efficient reagent for oxidation of primary and secondary alcohols to carbonyl compounds. *Tetrahedron Lett.*, p. 2647, 1975.
- CORRÊA, A. G. Taxol: da descoberta ao uso terapêutico. *Quím. Nova*, v. 18, p. 460, 1995.
- COSTA, P. R. R. Safrole and eugenol: Study of the chemical reactivity and use in the synthesis of biologically active natural products and its derivatives. *Quím. Nova*, v. 23, p. 357, 2000.
- COSTA, J. C. S.; COSTA, P. P. P. Synthesis of 6,7-methylenedioxyapachol. *Synth. Commun.*, v. 21, p. 713, 1991.
- COSTA, P. R. R.; LOPES, C. C.; PINTO, A. V. A convenient method for the preparation of 6,7-methylenedioxy-3-alkyl-2-hydroxy-1,4-naphthoquinones from natural safrole and carboxylic-acids. *Synth. Commun.*, v. 13, p. 691, 1983.
- CRABBÉ, P. Some Aspects of Steroid Research Based on Natural Products from Plant Origin. *Bull. Soc. Chim. Belg.*, v. 88, p. 345, 1979.
- CROSS, P. E.; DICKINSON, R. P. Thromboxane Synthetase Inhibitors and Antagonists. *Ann. Rept. Med. Chem.*, v. 22, p. 95, 1987.
- CUNHA, M. R. H.; XAVIER, F. E.; ARAÚJO-JÚNIOR, J. X.; BARREIRO, E. J.; MEDEIROS, I. A. Atividade cardiodepressora de novas piperamidas. In: REUNÃO ANUAL DA FESBE, 13, *Resumos*, 1998, p. 12-26.
- DAL PIAZ, V.; GIOVANNONI, M. P. Phosphodiesterase 4 Inhibitors, Structurally unrelated to Rolipram, as promising agents for the treatment of asthma and other pathologies. *Eur. J. Med. Chem.*, v. 35, p. 463, 2000.
- DAS, B.; KASHINATHAN, A.; MADHUSUDHAN, P. Regioselective Reduction of the α,β -Double Bond of Some Naturally Occurring Dienamides Using NaBH_4/I_2 System. *Tetrahedron Lett.*, v. 39, p. 677, 1998.
- DE CLERK, F.; BEETENS, J.; VAN DE WATER, A.; VERCAMMEN, E.; JANSSEN, P. A. J. R-68.070: thromboxane A2 synthetase inhibition and thromboxane A2/prostaglandin endoperoxide receptor blockade combined in one molecule—II. Pharmacological effects in vivo and ex vivo. *Thrombosis and Haemostasis*, v. 61, p. 43, 1989.

- DECHANT, K. L.; CLISSOLD, S. P. Paroxetine. A Review of its Pharmacodynamic and Pharmacokinetic Properties, and Therapeutic Potential in Depressive Illness. *Drugs*, v. 41, p. 225, 1991.
- DENIS, J. N.; CORREA, A.; GREENE, A. E. An improved synthesis of the taxol side-chain and of RP-56976. *J. Org. Chem.*, v. 55, p. 1957, 1990.
- DIAS, L. R. S.; ALVIM, M. J. F.; FREITAS, A. C. C.; BARREIRO, E. J.; MIRANDA, A. L. P.; Synthesis and Analgesic Properties of 5-Acylarylhydrazones 1-H Pyrazole (3,4-b)pyridine Derivatives. *Pharm. Acta Helveticae*, v. 69, p. 163, 1994.
- DJERASSI, C. Birth Control After 1984. *Science*, v. 169, p. 941, 1970.
- DUARTE, C. M.; ARAÚJO-JR., J. X.; PARENTE, J. P.; BARREIRO, E. J. Síntese de novos análogos de piperamidas hipotensoras. *Rev. Bras. Farm.*, v. 80, p. 35, 1999.
- DUH, C.-Y.; WU, Y.-C.; WANG, S. K. Cytotoxic Piridone Alkaloids from the Leaves of *Piper aborescens*. *J. Nat. Prod.*, v. 53, p. 1575, 1990.
- FARIAS, F. M. C.; BARREIRO, E. J.; COELHO, F. A. S.; COSTA, P. R. R. Análogos de prostaglandinas, síntese de novos prostanóides a partir do safrol. *Quím. Nova*, v. 7, p. 111, 1984.
- FERREIRA, V. F. Carboidratos abundantes em síntese orgânica. *Quím. Nova*, v. 18, p. 267, 1995.
- FIDDLER, G.; LUMLEY, P. Preliminary clinical studies with thromboxane synthase inhibitors and thromboxane receptor blockers. A review. *Circulation*, v. 81, supl. 1, p. 169, 1990.
- FRAGA, C. A. M. Síntese e avaliação farmacológica de novos análogos do piroxicam a partir do safrol. Rio de Janeiro: Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 1991. (Tese de Mestrado).
- FRAGA, C. A. M.; BARREIRO, E. J. The Synthesis of a New Benzothiazine Derivative, Related to Oxicams, Synthesized from Natural Safrole. *J. Heterocycl. Chem.*, v. 29, p. 1667, 1992.
- FRAGA, C. A. M.; MACEDO, L. F.; BARREIRO, E. J. Síntese e propriedades anti-inflamatórias de novos análogos do piroxicam derivados do safrol. In: REUNIAO ANUAL DA SBQ, 15, Resumos, 1992. QB-02.
- FREITAS, A. C. C.; BARREIRO, E. J. Perspectivas terapêuticas de fármacos que atuam na cascata do ácido araquidônico. *Rev. Bras. Farm.*, v. 75, p. 76-84, 1994.
- FRENCH, L. G. The sassafras tree and designer drugs - from herbal tea to ecstasy. *J. Chem. Ed.*, v. 72, p. 484, 1995.
- GASTON, M. J.; DIAS, L. R. S.; FREITAS, A. C. C.; MIRANDA, A. L. P.; BARREIRO, E. J.; Synthesis and Analgesic Properties of New 4-Arylhdyrazone 1H-Pyrazolo[3,4-b] Pyridine Derivatives. *Pharm. Acta Helveticae*, v. 71, p. 213, 1996.
- GIEMBYEZ, M. A. Phosphodiesterase 4 Inhibitors and the Treatment of Asthma - Where are we now and Where do we go from Here. *Drugs*, v. 59, p. 193, 2000.
- GOMES, L. N. L. F.; BARREIRO, E. J. Síntese de análogos de prostaglandinas a partir do ácido hidrocárpico. *Quím. Nova*, v. 7, p. 127, 1984.
- GONZALEZ-SERRATOS, H.; CHANG, R.; PEREIRA, E. F. R.; CASTRO, N. G.; ARACAVA, Y.; MELO, P. A.; LIMA, P. C.; FRAGA, C. A. M.; BARREIRO E. J.; ALBUQUERQUE, E. X. A Novel Thiénylhydrazones, (2-thienylidene)-3,4-methylenedioxybenzoylhydrazones, Increases Inotropism and Decreases Fatigue of Skeletal Muscle. *J. Pharmacol. Exp. Therap.*, v. 299, p. 558, 2001.
- GOODMAN, J.; WALSH, V. *The Story of Taxol, Nature and Politics in the Pursuit of an Anti-cancer Drugs*. Cambridge: Cambridge University, 2001.

- GUPTA, M. P.; ARIAS, T. D.; WILLIAMS, N. H.; BOS, R.; TATTJE, D. H. E. Safrole, the Main Component of the Essential Oil from *Piper auritum* of Panama, *J. Nat. Prod.*, v. 48, p. 330, 1985.
- HALL, S. E. Thromboxane A₂ receptor antagonists. *Med. Res. Rev.*, v. 11, p. 503, 1991.
- HAMBERG, M.; SVENSSON, J.; SAMUELSSON, B. In: SAMUELSSON, B.; PAOLETTI, R. (ed.). *Advances in Prostaglandins and Thromboxane Research*. v. 1. New York: Raven, 1976. p. 19.
- HOLTZMAN, M. J.; TURK, J.; SHORNIC, L. P. Identification of a Pharmacologically Distinct Prostaglandin H Synthase in Cultured Epithelial Cells. *J. Biol. Chem.*, v. 267, p. 21438, 1992.
- JUBY, P. F.; PARTYKA, R. A.; HUDYMA, T. W.; GOODWIN, W. R. Antiinflammatory Activity of Some Indan-1-carboxylic Acids and Related Compounds. *J. Med. Chem.*, v. 15, p. 1297, 1972.
- JUBY, P. F. *US Pat.*, Appl. Nr. 3.565.943, 1971.
- KATO, K.; OHKAWA, S.; TERAOKA, S.; TERASHITA, Z. I.; NISHIKAWA, K. Thromboxane synthetase inhibitors (TXSI) - design, synthesis, and evaluation of a novel series of omega-pyridylalkenoic acids. *J. Med. Chem.*, v. 28, p. 287, 1985.
- KATZ, A. H.; DEMERSON, C. A.; SHAW, C.-C.; ASSELIN, A. A.; HUMBER, L. G.; CONWAY, K. M.; GAVIN, G.; GUINOSSO, C.; JENSEN, N. P.; MOBILIO, D.; NOURELDIN, R.; SCHMID, J.; SHAH, U.; ENGEN, D. V.; CHAU, T. T.; WEICHMAN, B. M. Synthesis and analgesic activity of pemedolac (cis-1-ethyl-1,3,4,9-tetrahydro-4-(phenylmethyl)pyranof[3,4-b]indole-1-acetic acid). *J. Med. Chem.*, v. 31, p. 1244, 1988.
- KELLER-JUSLÉN, C. et al. Synthesis and Antimitotic Activity of Glycosidic Lignan Derivatives Related to Podophyllotoxin. *J. Med. Chem.*, v. 14, p. 936, 1971.
- KHALAJ, A.; RASTEGLI, H. R.; JORJANI, M. Synthesis and Muscle Relaxant Activity of Two Analogues of Dantrolene Sodium in Mice. *Pharm. Pharmacol. Commun.*, v. 4, p. 477, 1998.
- KLEIN, T.; NÜSING, R. M.; PFEILSCHIFTER, J.; ULLRICH, V. Selective Inhibition of Cyclooxygenase 2. *Biochem. Pharmacol.*, v. 48, p. 1605, 1994.
- KLUNGSOR, J.; SCHELINE, R. R. Metabolism of Safrole in the Rat. *Acta Pharmacol. Toxicol.*, v. 52, p. 211, 1983.
- KUPCHAN, S. M. et al. Tumor Inhibitors VII. Podophyllotoxin, the Active Principle of *Juniperus virginiana*. *J. Pharm. Sci.*, v. 54, p. 659, 1965.
- LAGES, A. S.; SILVA, K. C. M.; MIRANDA, A. L. P.; FRAGA, C. A. M.; BARREIRO, E. J. Synthesis and Pharmacological Evaluation of New Flosulide Analogues, Synthesized from Natural Safrole. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, v. 8, p. 183, 1998.
- LIMA, L. M.; ORMELLI, C. B.; BRITO, F. F.; MIRANDA, A. L. P.; FRAGA, C. A. M.; BARREIRO, E. J. Synthesis and antiplatelet evaluation of novel aryl-sulfonamide derivatives, from natural safrole. *Pharm. Acta Helvetiae*, v. 73, p. 281, 1999.
- LIMA, M. E. F. *Síntese e avaliação farmacológica de novos análogos do sulindaco*. Rio de Janeiro: Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 1989. (Tese de Mestrado).
- LIMA, M. E. F.; BARREIRO, E. J. The Synthesis and Anti-inflammatory Properties of a New Sulindac Analogue Synthesized from Natural Safrole. *J. Pharm. Sci.*, v. 81, p. 1219, 1992.
- LIMA, P. C. *Síntese e avaliação das propriedades antinociceptivas de novas acili-*

- drazonas derivadas do safrol*. Rio de Janeiro: Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 1998. (Tese de Mestrado).
- LIMA, P. C.; LIMA, L. M.; da SILVA, K. C. M.; LEDA, P. H. O.; MIRANDA, A. L. P.; FRAGA, C. A. M.; BARREIRO, E. J. Synthesis and analgesic activity of novel *N*-acylhydrazones and isosters, derived from natural safrole. *Eur. J. Med. Chem.*, v. 35, p. 187, 2000.
- LOMBARDINO, J. G. *Nonsteroidal Antiinflammatory Drugs*. New York: Wiley, 1985. p. 253-431.
- LOMBARDINO, J. G.; WISEMAN, E. Sudoxicam and Related *N*-Heterocyclic Carboxamides of 4-hydroxy-2H-1,2-Benzothiazine 1,1-Dioxide. Potent Nonsteroidal Antiinflammatory Agents. *J. Med. Chem.*, v. 15, p. 848, 1972.
- LUSCHER, T. F.; BARTON, M. Endothelins and endothelin receptor antagonists - Therapeutic considerations for a novel class of cardiovascular drugs. *Circulation*, v. 102, p. 2434, 2000.
- MACMILLAN, J.; MARTIN, I. L.; MORRIS, D. J. Tricyclic Dimers of Propenyl-phenyl Ethers - I. NMR and Stereochemistry. *Tetrahedron*, v. 25, p. 905, 1969.
- MARDELL, L. Hapless chemist in ecstasy nightmare. *Chem. Brit.*, p. 516, 1995.
- MARKER, R. E. et al. Steroidal Sapogenins. *J. Am. Chem. Soc.*, v. 69, p. 2167, 1947.
- MARTEL, R. R. et al. Etodolic Acid and Related Compounds. Chemistry and Antiinflammatory Actions of Some Potent Di- and Trisubstituted 1,3,4,9-Tetrahydropyrano[3,4-*b*]indole-1-Acetic Acids. *J. Med. Chem.*, v. 19, p. 391, 1976.
- MATHEUS, M. E.; OLIVEIRA, L. P.; FREITAS, A. C. C.; CARVALHO, A. M. A. S. P.; BARREIRO, E. J. Antinociceptive property of new 4-acyl-arylhydrazone pyrazole compounds. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, v. 24, p. 1219, 1991.
- MICHAJDA, C. J.; KOEPKE, M. B. K. *Carcinogen Activation by Sulfate Conjugate Formation*. In: ANDERS, M. W. e DEKANT, W. (ed.). *Advances in Pharmacology*. New York: Academic, 1994. v. 27, p. 331.
- MOBILIO, D.; HUMBER, L. G.; KATZ, A. H.; DEMERSON, C. A.; HUGHES, P.; BRIGANCE, R.; CONWAY, K.; SHAH, U.; WILLIAMS, G.; LABBADIA, F.; DE LANGE, B.; ASSELIN, A.; SCHMID, J.; NEWBURGER, J.; JENSEN, N. P.; WEICHMAN, B. M.; CHAU, T.; NEUMAN, G.; WOOD, D. D.; ENGEL, D. V.; TAYLOR, N. Structure-activity-relationships among analogs of pemedolac, cis-1-ethyl-1,3,4,9-tetrahydro-4-(phenylmethyl)pyrano[3,4-*b*]indole-1-acetic acid, a potent analgesic agent. *J. Med. Chem.*, v. 31, p. 2211, 1988.
- MONTANA, J. G.; DYKE, H. J. Phosphodiesterase 4 Inhibitors. *Ann. Rept. Med. Chem.*, v. 36, p. 41, 2001.
- MOORE, G. G. I.; HARRINGTON, J. K. *US Pat., Appl. Nr. 3.840.801.812*, 1974.
- MORS, W. B.; RIZZINI, C. T.; PEREIRA, N. A. *Medicinal Plants from Brazil*. Michigan: Reference Publications, 2000. p. 272.
- MURTEL FILHO, W.; TODESCHINI, A. R.; RODRIGUES, C. R.; ALVIM, M. J.; FREITAS, A. C. C.; ALENCASTRO, R. B.; MIRANDA, A. L. P.; BARREIRO, E. J. Hydrazones derivatives molecular modeling by AM1. In: REUNIÃO ANUAL DA SBQ, 18, *Resumos*, 1995. SA-17.
- NASKAR, D.; CHOWDHURY, S.; ROY, S. Is Metal Necessary in the Hunsdiecker-Borodin Reaction. *Tetrahedron Lett.*, v. 39, p. 699, 1998.
- NICOLAOU, K. C.; SORENSEN, E. J. *Classics in Total Synthesis*. Weinheim: VCH, 1996. p. 655.

- NICOLAOU, K. C.; GUY, R. K. The Conquest of Taxol. *Angew. Chem. Int., Ed. Engl.*, v. 34, p. 2079, 1995.
- NICOLAOU, K. C.; DAI, W.-M.; GUY, R. K. Chemistry and Biology of Taxol. *Angew. Chem. Int., Ed. Engl.*, v. 33, p. 45, 1994.
- ONG, H. H.; ALLEN, R. C. To Market, To Market. *Ann. Rept. Med. Chem.* v. 24, p. 295, 1988.
- ORMELLI, C. B.; REIS, A. L. A.; MIRANDA, A. L. P.; BARREIRO, E. J. Atividade antiagregante plaquetária de novos análogos de inibidores duplos TXS e TPant. In: REUNIÃO ANUAL DA FESBE, 12, *Resumos*, 1997, 05.040.
- PATSCHEKE, H.; STEGMEIER, K. Investigations on a selective non-prostanoid thromboxane antagonist, bm-13.177, in human-platelets. *Thromb. Res.*, v. 33, p. 277, 1984.
- PEREIRA, E. F. R.; PEREIRA, N. A.; LIMA, M. E. F.; COELHO, F. A. S.; BARREIRO, E. J. Anti-inflammatory Properties of New Bioisosteres of Indomethacin Synthesized from Safrole which are Sulindac Analogues. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, v. 22, p. 1415, 1989.
- PERRY, M. J.; HIGGS, G. A. Chemotherapeutic Potential of Phosphodiesterase Inhibitors. *Curr. Op. Chem. Biol.*, v. 2, p. 472, 1998.
- RABASEDA, X. Nimesulide: A Selective Cyclooxygenase 2 Inhibitor Antiinflammatory Drug. *Drugs Today*, v. 32, suppl. D, p. 1, 1996.
- RANDERATH, K.; MABON, N. In vitro and in vivo P-32-postlabeling analysis of 4-vinyl-1-cyclohexene (butadiene dimer) diepoxide-DNA adducts. *Cancer Lett.*, v. 101, p. 67, 1996.
- REIS, A. L. A. *Síntese de novos éteres de oxima análogos do ridogrel: inibidor de tromboxana sintase e antagonista de receptor de tromboxana A2*. Rio de Janeiro: Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 1996. (Tese de Mestrado).
- REITS, D. B.; SEIBERT, K. Selective Cyclooxygenase Inhibitors. *Ann. Rept. Med. Chem.*, v. 30, p. 179, 1996.
- RIBEIRO, I. G.; SILVA, K. C. M.; PARRINI, S. C.; MIRANDA, A. L. P.; FRAGA, C. A. M.; BARREIRO, E. J. Synthesis and antinociceptive properties of new structurally planned imidazo[1,2-a]pyridine 3-acylarylhydrazones derivatives. *Eur. J. Med. Chem.*, v. 33, p. 225, 1998.
- RIZZINI, C. T.; MORS, W. B. *Botânica econômica brasileira*. São Paulo: E.P.U., EDUSP, 1976, p. 119.
- ROMEIRO, N. C. *Estudos de modelagem molecular por AM1 de inibidores seletivos de COX-2*. Rio de Janeiro: Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 1998. (Tese de Mestrado).
- ROMEIRO, N. C.; DE ALENCASTRO, R. B.; BARREIRO, E. J. Estudos de modelagem molecular de inibidores seletivos de prostaglandina-H sintase-2 (PGHS-2). In: REUNIÃO ANUAL DA SBQ, 20, *Resumos*, 1997, SA-16.
- RUEGG, U. T.; GILLIS, J.-M. Calcium homeostasis in dystrophic muscle. *Trends Pharmacol. Sci.*, v. 20, p. 351, 1999.
- SACKETT, D. L. Podophyllotoxin, Steganacin and Combretastatin: Natural Products that Bind at the Colchicine Site of Tubulin. *Pharmacol. Ther.*, v. 59, p. 163, 1993.
- SANTOS, M. R. L.; BARREIRO, E. J.; BRAZ-FILHO, R.; MIRANDA, A. L. P. The synthesis of new isochromanylacetylarylhydrazones designed as probable non-addictive analgesic agents. *J. Braz. Chem. Soc.*, v. 8, p. 471, 1997.

- SANTOS, M. R. L.; BARREIRO, E. J.; BRAZ-FILHO, R.; Síntese e análise espectroscópica dos novos derivados isocromanilacilidrazônicos a partir do safrol. In: REUNIÃO ANUAL DA SBQ. 18, *Resumos*, 1995. QO-74.
- SANTOS, M. R. L.; DE CARVALHO, M. G.; BRAZ-FILHO, R.; BARREIRO, E. J. H-1 and C-13 NMR of bioactive isochromanylacetylarylhydrazone derivatives. *Mag. Res. Chem.*, v. 36, p. 533, 1998.
- SILVA, C. L. M.; NOËL, F. G.; BARREIRO, E. J. Vasodilatory Properties of LASSBio-294 and its dependence on cGMP increase. *Brit. J. Pharmacol.*, v.135, p. 293, 2002.
- SODERLING, S. H.; BEAVO, J. A. Regulation of cAMP and cGMP signaling: New Phosphodiesterases and new functions. *Curr. Op. Cell Biol.*, v. 12, p. 174, 2000.
- SHEN, T.Y.; WINTER, C.A. *Advances in Drug Research*. In: HARPER, N.S. e SIMMONDS, A.B. (ed.) London: Academic, 1977. p. 89-161.
- SHEN, T.Y. et al. Non-steroid Anti-inflammatory Agents. *J. Am. Chem. Soc.*, v. 85, p. 488, 1963.
- SHEN, T.Y. et al., *US Pat.*, Appl. Nr. 3.654.349. 1972
- SILVA, E. F. *Síntese e avaliação farmacológica de novos análogos do etodolac a partir do safrol*. Rio de Janeiro: Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 1991. (Tese de Mestrado).
- SILVA, E.T. *Planejamento, síntese e avaliação farmacológica de novos candidatos a agentes antiinflamatórios não-esteroidais de segunda geração, derivados do safrol*. Rio de Janeiro: Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2000. (Tese de Mestrado).
- SILVA, E. F.; BARREIRO, E. J. The Synthesis and Antiinflammatory Activity of 1-Alkyl-Isochroman-1-yl Acetic Acids Derivatives. *J. Braz. Chem. Soc.*, v. 4, p. 40, 1993.
- SILVA, M. J.; ALVES, A. J.; DO NASCIMENTO, S. C. Synthesis and cytotoxic activity of *N*-substituted thiosemicarbazones of 3-(3,4-methylenedioxy) phenylpropanal. *II Farmaco*, v. 53, p. 241, 1998.
- STORK, G.; MALDONADO, L. Anions of Protected Cyanohydrins as Acyl Carbanion Equivalents and their Use in a New Synthesis of Ketones. *J. Am. Chem. Soc.*, v. 93, p. 5286, 1971
- STORK, G.; TAKAHASHI, T. Chiral Synthesis of Prostaglandins (PGE₁) from D-Glyceraldehyde. *J. Am. Chem. Soc.*, v. 99, p. 1275, 1977.
- SUDO, R. T.; ZAPATA-SUDO, G.; BARREIRO, E. J. LASSBio-294, a Novel Cardionotropic agent, Increases the Calcium Content in the Sarcoplasmic Reticulum of Saponin-skinned Cardiac Fibres. *Br. J. Pharmacol.*, v. 134, p. 603, 2001.
- SWINGLE, K. F.; MOORE, G. G. I.; GRANT, T. J. 4-Nitro-2-Phenoxy Methanesulfonamide (R-805): a Chemically Novel Anti-inflammatory Agent. *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.*, v. 221, p. 132, 1976.
- TODESCHINI, A. R.; MIRANDA, A. L. P.; SILVA, K. C. M.; PARRINI, S. C.; BARREIRO, E. J. Synthesis and evaluation of analgesic, antiinflammatory and antiplatelet properties of new 2-pyridylarylhydrazone derivatives. *Eur. J. Med. Chem.*, v. 33, p. 189, 1998.
- UKENA, D.; RENTZ, K.; REIBER, C.; SYBRECHT, G. W. Effects of the mixed phosphodiesterase III/IV inhibitor, Zardaverine, on airway function in patients with chronic air-flow obstruction. *Respiratory Medicine*, v. 89, p. 441, 1995.
- VANE, J. R. Inhibition of Prostaglandin Synthesis as a Mechanism of Action for Aspirin-like Drugs. *Nature, New Biology*, v. 231, p. 232-235, 1971.

- VANE, J. R.; O'GRADY, J. (ed.), *Therapeutic Applications of Prostaglandins*. London: E. Arnold, 1993.
- WADSWORTH, W. S.; EMMONS, W. D. The utility of phosphonate carbanions in olefin synthesis. *J. Am. Chem. Soc.*, v. 83, p. 1733, 1961.
- WANI, M. W. et al. Plant Antitumor Agents. VI. The Isolation and Structure of Taxol, a Novel-Antileukemic and Antitumor Agent from *Taxus brevifolia*. *J. Am. Chem. Soc.*, v. 93, p. 2325, 1971.
- WARD, A.; CHAFFMAN, M. O.; SORKIN, E. M. Dantrolene – A Review of its Pharmacodynamic and Pharmacokinetic Properties and Therapeutic Use in Malignant Hyperthermia, The Neuroleptic Malignant Syndrome and an Update of its Use in Muscle Spasticity. *Drugs*, v. 32, p. 130, 1986.
- WHILHELM, R.; LOE, B.; ALVAREZ, R.; DEVÉNS, B.; FONG, A. Pyrido[2,3-d]pyridazinones as potent and selective Type IV Phosphodiesterase Inhibitors. In: *RCS-SCI Medicinal Chemistry Symposium*, 8, Cambridge, Inglaterra, 10-13 de setembro, 1995. p.32.
- WIESENBERG-BOETTCHER, I.; SCHWEIZER, A.; GREEN, J. R.; MUELLER, K.; MAERKI, F.; PFEILSCHIFTER, J. The pharmacological profile of CGP 28238, a novel highly potent anti-inflammatory compound. *Drugs Exp. Clin. Res.*, v. 15, p. 501, 1989.
- WITTENBERGER, S. J.; MCLAUGHLIN, M. A. Preparation of endothelin antagonist ABT-627. *Tetrahedron Lett.*, v. 40, p. 7175, 1999.
- YAMADA, S.; MORIZONO, D.; YAMAMOTO, K. Mild oxidation of aldehydes to the corresponding carboxylic acids and esters: alkaline iodine oxidation revisited. *Tetrahedron Lett.*, v. 33, p. 4329, 1992.
- YANAGISAWA, A.; SMITH, J. A.; BREZINSKI, M. E.; LEFER, A. M. Mechanism of antagonism of thromboxane receptors in vascular smooth-muscle. *Eur. J. Pharmacol.*, v. 133, p. 89, 1987.
- ZHAO, F. Y.; LI, P.; CHEN, S. R. W.; FRUEN, B. R. Dantrolene Inhibition of Ryanodine Receptor Ca^{2+} Release Channels – Molecular Mechanism and Isoform Selectivity. *J. Biol. Chem.*, v. 276, p. 13810, 2001.
- ZUCCHI, R.; RONCA, F.; RONCA-TESTONI, S. Modulation of Sarcoplasmic Reticulum Function: A New Strategy in Cardioprotection? *Pharmacol. Therapeut.*, v. 89, p. 47, 2001.

14. SUGESTÕES PARA LEITURA

- BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. M. *Química Medicinal: as razões moleculares da ação dos fármacos*. Porto Alegre: ArtMed, 2001.
- BARREIRO, E. J. Desenho de fármacos a partir de produtos naturais em plantas medicinais sob a ótica da química medicinal moderna. In: YUNES, R. A.; CALIXTO, J. B. (ed.). *Plantas medicinais sob a ótica da química moderna*. Chapecó: Argos, UNOESC, 2001, p. 237-296.
- CRAGG, G. M.; NEWMAN, D. J.; SNADER, K. M. Natural Products in Drug Discovery and Development. *J. Nat. Prod.*, v. 60, p. 52, 1997.
- CORDELL, G. A. Biodiversity and drug discovery – a symbiotic relationship. *Phytochem.*, v. 55, p. 463, 2000.
- DEWICK, P. M. *Medicinal Natural Products, a Biosynthetic Approach*. New York: Wiley, 1999.

- FUSETANI, N. (ed.). *Drugs from the Sea*, Basel: Karger, 2000.
- GRABLEY, S.; THIERICKE, R. (eds.). *Drug Discovery from Nature*. Berlin: Springer-Verlag, 1999.
- HARVEY, A. *Natural Products Pharmaceuticals: A Diverse Approach to Drug Discovery*. Surrey: Scrip Reports, 2001.
- MABRY, T. J. Selected Topics from Forty Years of Natural Products Research: Betalains to Flavonoids, Antiviral Proteins, and Neurotoxic Nonprotein Amino Acids, *J. Nat. Prod.*, v. 64, p. 1596, 2001.
- MANN, J.; DAVIDSON, R. S.; HOBBS, J. B.; BANTHORPE, D. V.; HARBORNE, J. B. *Natural Products Their Chemistry and Biological Significance*. Harlow: Longman, 1998.
- NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M.; SNADER, K. M. The Influence of Natural Products upon Drug Discovery. *Nat. Prod. Rep.*, v.17, p.215, 2000.
- PETTTT, G. R. Progress in the Discovery of Biosynthetic Anticancer Drugs. *J. Nat. Prod.*, v.59, p. 812, 1996.
- SHU, Y-Z. Natural Products Based Drug Development: A Pharmaceutical Industry perspective. *J. Nat. Prod.*, v. 61, p. 1053, 1998.

NOMENCLATURA BOTÂNICA, CLASSIFICAÇÃO E IDENTIFICAÇÃO DE PLANTAS MEDICINAIS

AUTORES

Lilian Auler Mentz

Sérgio Augusto de Loreto Bordignon

SUMÁRIO DO CAPÍTULO

1. Introdução
2. Coleta, herborização e catalogação de amostras vegetais
3. Identificação de espécies
4. Classificação
5. Características morfológicas importantes na identificação de plantas
6. Referências bibliográficas
7. Sugestões para leitura

1. INTRODUÇÃO

O número de espécies de seres vivos no globo é estimado em cerca de 1,5 milhões (Stace, 1985). Destes, cerca de 300.000 foram incluídos por Bold et al. (1987) no reino Plantae (ver tabela 1 do capítulo "Diversidade biológica e sistemas de classificação"), em sentido amplo, dos quais 235.000 corresponderiam as Magnoliophyta, também denominadas de angiospermas (Raven et al., 1996). Estimativas atuais (Prance et al., 2000) sugerem que apenas as Magnoliophyta estão representadas por um número entre 300.000 e 320.000 espécies, inflacionando a previsão de Bold et al. (1987) para, pelo menos, 380.000 táxons pertencentes ao reino Plantae. Esse incremento no número de angiospermas deve-se, segundo Prance et al. (2000), ao grande número de descrições de novas espécies ainda realizadas pelos botânicos. Essa diversidade é responsável pela dificuldade que os biólogos têm em reconhecer todas as entidades de seres vivos e classificá-las em sistemas que reflitam a sua real posição hierárquica na natureza. Alguns procedimentos precisam ser utilizados para facilitar a identificação de um ser vivo e sua colocação em um sistema já estabelecido. Em primeiro lugar, é importante estabelecer diferenças entre identificação e classificação. A identificação consiste na comparação com uma espécie já descrita e é feita a cada vez que se deseja conhecer o nome de um ser coletado ou encontrado na natureza; pode ser baseada na comparação com outro existente em uma cole-

ção ou na comparação de suas características com descrições e ilustrações encontradas na literatura. Já a classificação, coloca ou agrupa um determinado ser vivo em uma categoria específica dentro de uma hierarquia. Portanto, a classificação é feita apenas uma vez para cada ser vivo, ou poucas vezes, quando evidências posteriores obrigam sua realocação em outra categoria taxonômica.

2. COLETA, HERBORIZAÇÃO E CATALOGAÇÃO DE AMOSTRAS VEGETAIS

Quando se trabalha com plantas, a identificação da espécie e sua perpetuação como testemunho são os passos mais importantes para que qualquer investigação possa ser reproduzida. Estudos que envolvam plantas medicinais, quer sejam na área de etnobotânica, etnofarmacologia, farmacologia, farmacognosia, fitoquímica, agronomia ou biotecnologia, para que mereçam confiabilidade, devem partir da certeza de que as espécies envolvidas estejam corretamente identificadas e depositadas no herbário de uma instituição. Para tanto, alguns procedimentos devem ser seguidos, tais como coleta, herborização e registro.

2.1. Coleta

A coleta é o processo de se retirar uma ou mais plantas inteiras ou partes delas da natureza. Antes da coleta de qualquer espécie são necessárias algumas considerações. Levantamentos etnobotânicos e etnofarmacológicos, via de regra, têm como preocupação reunir o maior número de espécies utilizadas como medicinais por uma população. Os primeiros, com um objetivo mais amplo e os segundos, frequentemente buscando plantas com uma determinada atividade (analgésica, antiinflamatória, etc.). Já levantamentos fitoquímicos ou farmacognósticos, na maioria das vezes, buscam espécies vegetais para a elaboração de *screenings* ou são orientadas pelo conhecimento quimiotaxonômico, dirigindo a coleta para espécies de determinados gêneros, famílias ou categorias taxonômicas superiores. Em todos esses casos, são necessários cuidados antes de cada coleta. Em primeiro lugar, é necessário observar se a planta-alvo da coleta é o único exemplar na região. Apesar da idéia, amplamente difundida, de que o Brasil é um celeiro de biodiversidade, deve-se ter em mente que existem espécies em risco de extinção, e que sua coleta indiscriminada pode acentuar esse risco. Quando se coleta com o intuito de identificar uma espécie, pode-se retirar da natureza pouco material, mas quando o objetivo é o de se obter extratos ou substâncias ativas, é necessária uma quantidade maior e é então que tais cuidados devem ser tomados. Segundo Gottlieb e Borin (1997), para se obter 50 mg de um composto puro, encontrado em um percentual de rendimento de 0,001%, é necessária a utilização de 5 kg de planta seca. Como em média,

para a obtenção de 1 kg de planta seca são necessários 10 kg de planta fresca, torna-se importante verificar, antes da coleta, se no local existe quantidade suficiente, sem causar danos à população de exemplares da espécie em questão. Um exemplo clássico, no Brasil, foi o da coleta extrativa, com fins industriais, de espécies de *Pilocarpus* no nordeste e norte do país, para a obtenção de pilocarpina. Populações de plantas de diversas áreas desapareceram (Balick, 1994), colocando em risco de extinção as espécies mais importantes, *Pilocarpus microphyllus* Stapf ex Wardleworth (Piauí e Maranhão) e *Pilocarpus jaborandi* Holmes (Pernambuco e Ceará). O cultivo racional dessas espécies parece ser a única alternativa para que o processo de extinção seja revertido. Outro exemplo, com outro enfoque, o do modismo, foi o risco da extinção de *Tabebuia heptaphylla* (Vell.) Toledo (= *Tabebuia avellanedae* Lorentz ex Griseb.), conhecida como ipê-roxo, que foi objeto de estudo por parte do U.S. National Cancer Institute, tendo sido alguns dos resultados divulgados nos meios de comunicação. Esta divulgação fez com que cascas dos troncos das árvores dessa espécie fossem arrancadas indiscriminadamente, provocando a morte de numerosos indivíduos na Mata Atlântica, nas matas adjacentes ao Rio Paraná e mesmo daquelas cultivadas em parques ou em arborização urbana (Bordignon, observação pessoal).

2.2. Herborização

A herborização é o processo de preparação do material coletado para preservá-lo em uma coleção de plantas denominada herbário. Mesmo que o objetivo da coleta seja a obtenção de um extrato ou de substâncias ativas, é obrigatória a preparação de uma ou mais plantas que servirão como testemunho de que aquela espécie foi utilizada para este ou aquele procedimento. O nome que se dá à planta herborizada e acondicionada em uma pasta ou folha de papel é exsicata. Esta palavra deriva da palavra latina *exsicco*, que quer dizer secar. A preparação das exsicatas inicia com a coleta, tomando-se o cuidado de coletar plantas que contenham estruturas reprodutivas, como flores ou frutos, o que facilita a identificação. Plantas de pequeno porte, como ervas, são retiradas inteiras, inclusive com raízes. Plantas maiores do que cerca de 40 cm, mas não mais do que 80 cm, podem ser coletadas inteiras, sendo divididas em duas ou três porções menores, que serão mantidas na mesma exsicata. De arbustos e árvores cortam-se porções terminais dos ramos, com cerca de 30 cm, onde se encontram as flores e/ou frutos. Se a parte da planta utilizada não for aquela da coleta para identificação, mas sim a casca do caule, por exemplo, é importante anexar uma amostra da mesma na exsicata. Os ramos ou plantas inteiras são então colocados entre várias folhas de papel absorvente, como, por exemplo, jornal, procurando-se estender as folhas e flores para que não fiquem dobradas ou enrugadas. Dois ou três conjuntos de papel-jornal contendo ramos de plantas devem ser se-

parados por cartões de papelão, os quais podem também ser separados por folhas de alumínio fino e ondulado, que facilitam a passagem de ar quente entre os conjuntos. Todos os conjuntos assim montados devem ser colocados entre duas lâminas de material resistente e duro, como, por exemplo, madeira. A essas lâminas dá-se o nome de prensa, a qual tem por função manter o material coletado apertado entre os papéis e papelões, de modo que, ao secar, os ramos, folhas e flores permaneçam perfeitamente distendidos. A prensa, quando colocada em uma estufa para acelerar o processo de secagem, deve ser bem amarrada com uma corda ou cinta resistente. Se o processo de secagem escolhido for o natural, o papel-jornal deve ser trocado todos os dias, e a prensa deve ficar sob um material bastante pesado. Cada espécie vegetal tem um tempo de secagem diferente, que vai depender da quantidade de água existente na planta. Plantas suculentas (crassas, carnosas), como cactáceas, crassuláceas e algumas euforbiáceas e asteráceas, entre outras, exigem um preparo diferenciado, devido à grande quantidade de água que existe em seus tecidos. As técnicas utilizadas vão depender do porte da planta, quantidade de água, presença de espinhos, etc., sendo necessária, às vezes, a imersão das plantas em soluções fixadoras ou a retirada da porção interna através de raspagem (Mejorada, 1986). Além do cuidado com o tempo de secagem, é importante etiquetar cada planta, com um número de referência ou com os dados de coleta, anexados em uma etiqueta ou registrados em um caderno de coleta, constando no papel-jornal apenas o número correspondente. Quando o material estiver seco, procede-se ao preparo da exsicata. A folha ou pasta com que se faz uma exsicata tem, em regra, o tamanho de um jornal tablóide, devendo ter a textura aproximada do papel-cartolina. O material coletado e secado é preso nesse papel especial, com fita adesiva, cola ou linha e agulha, dependendo das normas do herbário em que será depositado.

2.3. Registro de dados

A direita e na porção inferior da pasta é anexada a etiqueta de coleta, a qual deve conter todas as informações referentes à planta, como o nome científico, família botânica, nome popular – quando conhecido –, local e data da coleta, nome do coletor e número de coleta do mesmo. Atualmente, utiliza-se um aparelho denominado GPS (*Global Position System*), que dá com maior precisão as coordenadas sobre o exato local da coleta. Esses dados são importantes para que se possa coletar a mesma espécie no mesmo local e data aproximada, quando desejado. Também é interessante que seja registrado o nome do botânico que identificou a espécie, além de dados não mais visíveis na planta seca, como cor das folhas e flores, aroma, etc.. Outros dados que devem ser acrescentados referem-se ao ambiente, tipo de vegetação, hábito,

porte da planta, altitude, etc. Quando o objetivo da coleta é um levantamento etnobotânico ou etnofarmacológico, todos os dados obtidos referentes ao uso popular da espécie devem ser registrados. Se o objetivo é farmacognóstico ou fitoquímico deve-se referir na etiqueta que aquele material é testemunho para o trabalho ou projeto específico. Sempre que uma exsicata é testemunho de trabalho científico é importante que o herbário escolhido para sua inclusão e conservação seja de fácil acesso à comunidade científica e que de preferência seja indexado no *Index Herbariorum*, o que lhe confere confiabilidade no que diz respeito à manutenção da coleção. Também é importante que nas publicações científicas o número do coletor e/ou herbário, além da sigla do herbário em que o material foi depositado sejam mencionados. Quando é possível preparar mais de uma exsicata de uma mesma espécie, de ramos retirados da mesma planta, as exsicatas são consideradas duplicatas. Elas podem ser distribuídas para outros herbários, garantindo a perpetuação do material-testemunho. Muitos herbários adicionam o seu número de coleção, o que é importante sempre que não exista número de coletor.

Os herbários nacionais estão localizados em Jardins Botânicos, Universidades ou outras instituições de pesquisa. Alguns deles têm em suas coleções centenas de milhares de plantas, as quais podem ser utilizadas para comparação na identificação de espécies. Os herbários são organizados, em regra, em ordem alfabética de família, com seus gêneros e espécies igualmente ordenados alfabeticamente. Em alguns herbários, coleções especiais são mantidas separadas da coleção principal, como por exemplo, a coleção de tipos (para o conceito de tipo, ver item 4.3. deste capítulo), a coleção de um coletor importante, ou a coleção da flora de uma região específica (reserva biológica, parque, etc.).

3. IDENTIFICAÇÃO DE ESPÉCIES

A identificação pode ser feita com a planta recentemente coletada ou com a exsicata já preparada. É aconselhável a presença de flores e/ou frutos; a falta dessas estruturas pode induzir ao erro ou dificultar extremamente o trabalho do botânico. Plantas de regiões onde a biodiversidade é muito grande, como a Mata Atlântica, o Cerrado Brasileiro e a Floresta Amazônica são mais difíceis de identificar do que plantas onde a vegetação tem um número pequeno de espécies diferentes, situação em que a consulta a bibliografia e a comparação com material de herbário geralmente é mais fácil. Espécies oriundas de outros países ou continentes, cultivadas como medicinais ou ornamentais, como também aquelas que ocorrem de forma espontânea e que sofreram hibridizações, tais como as do gênero *Mentha* (família Lamiaceae), são, com frequência, difíceis de identificar. A identificação correta, com a nomenclatura atualmente válida, muitas vezes só pode ser realizada por um especialista em uma determinada família ou gênero.

Para a identificação correta de uma espécie, além da comparação com material já determinado por especialistas em herbário, é necessária uma ampla revisão bibliográfica. A literatura mais confiável é a monografia do gênero, tribo ou família. Quando não existente, pode-se recorrer a floras da região, Estado ou outra unidade, como reservas biológicas. No Brasil não existem muitas monografias de famílias ou táxons inferiores, como tribos ou gêneros. Algumas podem ser encontradas na *Flora Neotropica* (que inclui o Brasil), ou em teses (algumas para todo o Brasil) e dissertações (geralmente para Estados, Municípios ou outras delimitações geográficas), essas de localização mais difícil nas bibliotecas do país. A primeira flora do Brasil, chamada *Flora Brasiliensis*, foi iniciada e organizada por Carl Friedrich Philipp von Martius (que viveu de 1794 a 1868), escrita entre 1840 e 1906, reunindo esforços de inúmeros botânicos europeus, resultando em 15 volumes, constituindo-se em importante marco histórico para o estudo da flora brasileira (Förther, 1994). Existem algumas floras de Estados, como a *Flora Ilustrada de Santa Catarina*, com um número considerável de famílias descritas e outras com poucas famílias monografadas (Rio Grande do Sul e Goiás, por exemplo). A Flora do Estado de São Paulo encontra-se atualmente em elaboração. Também são importantes, principalmente para a identificação de plantas da região sul do Brasil, as floras da Argentina (como *Flora Ilustrada de Entre Rios* e *Flora de la Provincia de Buenos Aires*), e floras do Uruguai (*Flora Montevidensis*). Em uma monografia ou em uma flora são encontradas chaves de identificação das espécies, que facilitam a determinação do material coletado. Além disso tais publicações contêm descrições e quase sempre ilustrações das espécies. Nem sempre todas as espécies de uma família constam das monografias, porque às vezes o autor não teve acesso a todas as coletas da região estudada ou, freqüentemente, a monografia foi elaborada sem que o autor tivesse oportunidade de conhecer a flora da região, trabalhando apenas com plantas herborizadas, coletadas por outras pessoas. Por isso, a identificação feita por botânicos que tenham profundo conhecimento sobre a região da coleta da espécie e sobre a bibliografia referente a essa região, é de fundamental importância.

4. CLASSIFICAÇÃO

Para entender o processo de classificação, são necessários alguns conceitos referentes às categorias taxonômicas e à hierarquia entre os diversos níveis de classificação.

Táxon é um termo estabelecido pelo *Código Internacional de Nomenclatura Botânica*, para designar uma unidade taxonômica de qualquer hierarquia (família, gênero, espécie, subespécie, etc.). Este código pode sofrer modificações por decisão do Comitê Permanente de Nomenclatura, em se-

ções plenárias nos Congressos Internacionais de Botânica. O último código publicado, e que se encontra em vigor atualmente, é o aprovado em 1999 (Greuter et al., 2000).

As unidades taxonômicas podem ser amplas, como as divisões e classes, ou mais restritas, como gêneros, seções ou espécies. Assim, as espécies são reunidas em gêneros, esses em subtribos, tribos, subfamílias ou famílias e as famílias em ordens, essas em classes e as classes, em divisões. O ordenamento hierárquico desses táxons é realizado por sistematistas, sendo interessante registrar a diferença existente entre sistemática e taxonomia. A sistemática tem por objetivo agrupar os seres vivos dentro de um sistema (Barroso et al., 1978). Atualmente, existem vários sistemas de classificação, sendo mais aceitos aqueles que levam em conta o maior número de caracteres, principalmente evolutivos: morfológicos externos e internos, embriológicos, genéticos e químicos (ver capítulo "Diversidade biológica e sistemas de classificação"). A taxonomia tem um sentido mais restrito, sendo caracterizada por abranger a identificação (= determinação) dos seres vivos em seus táxons respectivos, sem a preocupação de inseri-los em um sistema. No entanto, para muitos autores, sistemática e taxonomia são sinônimos (Stace, 1985).

4.1. Conceito de espécie

Denominam-se espécies os grupos de populações que têm semelhanças relativamente grandes entre si, diferindo de outros grupos de populações menos semelhantes. No entanto, o conceito e o emprego deste termo difere grandemente entre os taxonomistas (Raven et al., 1996; Judd et al., 1999). Quando, em uma espécie, existirem dois ou mais grupos de plantas com uma ou mais características constantes em cada grupo, a mesma pode ser dividida em subespécies.

As espécies, principalmente aquelas de importância econômica, também podem ser divididas em variedades, formas e cultivares. Essas entidades infraespecíficas surgem naturalmente na natureza (variedades) ou são produto de cruzamentos entre plantas que sofreram cultivo (cultivares), com o objetivo de se obter descendências com determinadas características de interesse. Atualmente, cultivares podem ser obtidos com técnicas de engenharia genética. Formas nem sempre são consideradas pelos taxonomistas, correspondendo a populações dentro de uma espécie que diferem em apenas um caráter constante. Raças químicas podem ser encontradas dentro de uma espécie, quando uma população se caracteriza por apresentar uma determinada substância química inexistente em outra população (ver conceito de cultivar e raça no capítulo "Aspectos genéticos e moleculares da produção vegetal").

4.2. Designações taxonômicas

Cada unidade taxonômica supragenérica tem um sufixo próprio, que indica em que grau o grupo está incluído dentro do sistema. O exemplo a seguir (tabela 1), baseado no sistema de Cronquist (1981, 1988), lista hierarquicamente as diferentes unidades taxonômicas e é ilustrado com duas espécies bem conhecidas, a batata-inglesa (*Solanum tuberosum* L.), da classe Magnoliopsida e o milho (*Zea mays* L.), da classe Liliopsida. A batata-inglesa pertence a um gênero que tem cerca de 1500 espécies e, por isso, é dividido em subgêneros e seções, enquanto o milho pertence a um gênero monoespecífico, não necessitando, portanto, de divisões infragenéricas.

TABELA 1
Classificação de *Solanum tuberosum* L. e *Zea mays* L.,
até família, segundo Cronquist (1981, 1988)*

Categoria taxonômica	Sufixo	Batata-inglesa	Milho
DIVISÃO	PHYTA	Magnoliophyta	Magnoliophyta
CLASSE	OPSIDA	Magnoliopsida	Liliopsida
SUBCLASSE	IDAE	Asteridae	Commelinidae
ORDEM	ALES	Solanales	Cyperales
FAMÍLIA	ACEAE	Solanaceae	Poaceae
SUBFAMÍLIA	OIDEAE	Solanoideae	Panicoideae
TRIBO	EAE	Solaneae	Andropogoneae
SUBTRIBO	INAE	Solaninae	Tripsacinae
GÊNERO		<i>Solanum</i>	<i>Zea</i>
SUBGÊNERO		<i>Solanum</i>	
SEÇÃO		<i>Petota</i>	
ESPÉCIE		<i>Solanum tuberosum</i> L.	<i>Zea mays</i> L.

* a classificação infrafamília de *Solanum* está baseada em Hunziker (1979) e a infragenérica em Hawkes e Hjerting (1969); a classificação infrafamília de *Zea* está baseada em Clayton e Renvoize (1986).

Alguns autores (R.Dahlgren, 1980; G.Dahlgren, 1989; Takhtajan, 1997) utilizam também a categoria "superordem", com o sufixo *anae*, colocada entre a subclasse e a ordem. As famílias devem ser escritas com o sufixo *aceae*, existindo, no entanto, algumas exceções. Por exemplo, algumas das maiores famílias de Magnoliophyta - Poaceae, Asteraceae e Fabaceae eram conhecidas como Gramineae, Compositae e Leguminosae, respectivamente. Atualmente esses últimos nomes ainda são aceitos, observando-se uma tendência para a utilização dos primeiros. Além dessas, também são aceitos os nomes tradicionais Cruciferae (Brassicaceae), Umbelliferae (Apiaceae), Labiatae (Lamiaceae), Guttiferae (Clusiaceae) e Palmae (Arecaceae).

4.3. Nomenclatura científica

A espécie é a entidade base nos sistemas de classificação. Cada espécie tem um nome científico, formado por um binômio, que deve obedecer às regras do *Código Internacional de Nomenclatura Botânica*. As principais regras são:

1. O nome científico é sempre um binômio, escrito em latim, ou em palavras ou nomes latinizados.

2. A primeira palavra do binômio científico corresponde ao gênero e deve ser escrito com letra inicial maiúscula. A segunda palavra corresponde ao epíteto específico, para uma espécie determinada, o qual deve concordar gramaticalmente com o nome do gênero e ser escrito com letra inicial minúscula.

3. O binômio científico deve ser acompanhado do nome do autor do mesmo, isto é, daquela pessoa que descreveu a espécie. Nomes de autores podem ser abreviados, sendo recomendado que as abreviaturas não sejam aleatórias, sugerindo-se que sejam obedecidas as normas propostas por Brummit e Powell (1992).

4. Sempre que houver mais de um epíteto específico para nominar uma espécie, vale o princípio da prioridade, devendo ser utilizado o nome mais antigo, sendo os demais considerados sinônimos. Essa regra vale para todos os nomes publicados a partir de 1753.

5. O binômio científico deve ser grifado no texto (o grifo em *italico* é o usual; quando manuscrito, deve ser sublinhado). Nomes de outras categorias hierárquicas, como tribos, famílias, ordens ou divisões não precisam ser grifadas.

Quando uma espécie é transferida de um gênero para outro, o nome do autor do epíteto específico deve vir entre parênteses, antes do nome do autor que estabeleceu a nova combinação. Assim, o baicuru, de nome científico *Limonium brasiliense* (Boiss.) Kuntze, foi descrito inicialmente como *Statice brasiliensis* Boiss.. Quando Kuntze concluiu que o gênero correto para a espécie deveria ser *Limonium*, o epíteto específico dado por Boissier obrigatoriamente ficou ligado ao nome de seu autor, entre parênteses. Algumas espécies receberam nomes desacompanhados de descrição. Neste caso, o nome do autor da descrição deve ser mencionado após o nome do autor do nome da espécie, como por exemplo em *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reissek. Dessa forma fica claro que Martius deu nome à espécie, mas o responsável pela descrição foi Reissek. O *Código Internacional de Nomenclatura Botânica* (Greuter et al., 2000) permite, porém, que seja excluído o nome do denominador da espécie, podendo, então, o nome desse exemplo ser redigido como *Maytenus ilicifolia* Reissek. Algumas espécies foram descritas por mais de um autor, sendo necessário mencioná-los, utilizando-se *et* ou *&* entre seus nomes. Assim, Ruiz e Pavón descreveram

uma espécie do gênero *Chondodendron*, devendo a mesma ser mencionada como *Chondodendron tomentosum* Ruiz et Páv. (ou Ruiz & Páv.). Em alguns casos, em uma descrição considerada incompleta, algumas características importantes podem ser adicionadas por outro autor, em nova publicação, devendo ser acrescentada a abreviatura *emend* (*emendavit*) acompanhada do nome deste último. Nesse caso, *Crataegus monogyna* Jacquin *emend* Lindman recebeu o nome específico de Jacquin, acompanhado de pequena descrição, a qual foi ampliada, para melhor delimitação da espécie, por Lindman.

Existem gêneros que agrupam numerosas espécies, como *Maytenus*, no qual se inclui a espinheira-santa, *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reissek, da família Celastraceae, o qual é constituído por mais de 225 espécies diferentes (Carvalho-Okano, 1992). Já o gênero *Ginkgo* L. (Ginkgophyta) é monotípico, isto é, constituído por uma única espécie, *Ginkgo biloba* L., de nome popular ginko. Fenotipicamente não existe outra planta que poderia ser incluída nesse gênero.

Os sinônimos, isto é, um ou mais nomes atribuídos à mesma espécie, são nomes que foram dados por pesquisadores para designar espécies consideradas por eles como novas. A origem do grande número de sinônimos encontrados na literatura decorre das dificuldades de comunicação entre os diferentes estudiosos desde a era Lineana até o início do século XX. Coletas de diferentes origens geográficas ou até mesmo de diferentes partes da planta e que, portanto, mostravam uma pequena variação morfológica, eram tidas como novas. Esse fenômeno demonstra a filosofia da época pré-darwiniana, isto é, a crença na imutabilidade das espécies, teoria conhecida como fixismo (Bezerra e Fernandes, 1989). Já no século XIX, especialistas em determinadas famílias conseguiram sinonimizar um número muito elevado de nomes. O *Index Kewensis*, editado a partir de 1895 e atualizado em um intervalo médio de cinco anos e o *Gray Herbarium Index*, publicado em 1968, listam os nomes válidos e seus sinônimos com uma boa margem de segurança. Monografias de famílias, tribos, gêneros ou seções são, via de regra, a fonte mais confiável para a obtenção de uma listagem de sinônimos. Além das monografias, podem ser consultadas floras de regiões, estados ou países. Existem meios eletrônicos para a obtenção de informações sobre a validade de nomes específicos, como por exemplo, o *The International Plant Name Index*, mantido por três instituições: The Royal Botanic Gardens, Kew, The Harvard University Herbaria e Australian National Herbarium (www.ipni.org), além do *w3Tropicos*, organizado pelo Missouri Botanical Garden (www.mobot.org), ambos atualizados periodicamente.

Um exemplo de como podem ocorrer dificuldades para se definir o nome válido de uma espécie, encontra-se descrito a seguir, utilizando-se alguns dos sinônimos mencionados em Armada e Barra (1992), para a es-

pécie conhecida popularmente como erva-cidreira, pertencente a família Verbenaceae. Essa espécie foi descrita pela primeira vez por Palau, botânico espanhol, com o nome de *Aloysia citrodora* Palau [Parte Práct. Bot. 1:768. 1784.], sendo este considerado o nome científico mais antigo, portanto válido. Devido às características morfológicas da espécie, ela já esteve classificada dentro dos gêneros *Verbena* e *Lippia*. A transferência de espécies entre gêneros ocorre quando um ou mais autores detectam estruturas ou características que a justifiquem. A primeira vez que esteve em *Verbena* ocorreu quando L'Heritiér, botânico francês, descreveu como espécie nova *Verbena triphylla* L'Hér. [Stirp. 1:21, pl. 11. 1785.]. Seguiu-se uma nova combinação, para *Verbena citrodora* (Palau) Cav. [Descript. 68. 1802.], já que Cavanilles, botânico espanhol, considerou que *Verbena triphylla* e *Aloysia citrodora* eram a mesma espécie, valendo, portanto, o epíteto específico mais antigo, desconsiderando no entanto, a validade do gênero *Aloysia*. Mais tarde Kuntze, botânico alemão, decidiu que a espécie estaria melhor incluída no gênero *Lippia*, fazendo outra combinação, desta vez desconsiderando o epíteto específico mais antigo, passando a espécie para *Lippia triphylla* (L'Hér.) Kuntze [Rev. Gen. Pl. 3(2):253. 1898.]. Já Britton, botânico norte-americano, reabilitou o gênero *Aloysia*, considerando-o diferente de *Verbena* e *Lippia*, fazendo outra combinação, *Aloysia triphylla* (L'Hér.) Britton [Bot. Porto Rico 6: 140. 1925.], desconsiderando também o epíteto específico mais antigo. A reabilitação de *Aloysia citrodora* Palau deve-se a Armada e Barra [Taxon 41:88-90. 1992.].

É importante mencionar que diversas espécies publicadas nas três primeiras edições da Farmacopéia Brasileira (1929, 1959, 1977), tiveram seus nomes científicos modificados, principalmente devido à realização de estudos taxonômicos que trouxeram informações sobre a validade dos mesmos. Exemplificando, *Cassia angustifolia* Vahl e *Cassia acutifolia* Delile, nomes mencionados nas três primeiras edições da Farmacopéia Brasileira, além de *Cassia senna* L., nome encontrado em outras farmacopéias, são sinônimos de *Senna alexandrina* Mill. (Luckow, 1996), nome válido já mencionado na quarta edição da mesma Farmacopéia (1996).

Portanto, para a denominação da espécie aceita-se apenas um nome, baseado no critério de prioridade de descrição. Já para as posições intermediárias supraespecíficas, existem classificações diversas de acordo com o sistema adotado, que são arbitrárias e dependem do conceito de cada autor.

Por exemplo, *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reissek, a espinheira-santa, segundo os sistemas de classificação de Engler, em Melchior (1964), R. Dahlgren (1980), Cronquist (1988), G. Dahlgren (1989) e Takhtajan (1997) está classificada conforme mostra a tabela 2.

TABELA 2

Posição taxonômica de *Maytenus ilicifolia* nos sistemas de Engler, em Melchior (1964), Cronquist (1988), R. Dahlgren (1980), G. Dahlgren (1989) e Takhtajan (1997)

Táxon	Engler (em Melchior, 1964)	Cronquist (1988)	R. Dahlgren (1980) G. Dahlgren (1989)*	Takhtajan (1997)
DIVISÃO	ANGIOSPERMAE	MAGNOLIOPHYTA	ANGIOSPERMAE	MAGNOLIOPHYTA
CLASSE	DICOTYLEDONEAE	MAGNOLIOPSIDA	MAGNOLIOPSIDA	MAGNOLIOPSIDA
SUBCLASSE	ARCHICHLAMYDEAE	ROSIDAE	MAGNOLIIDAE	ROSIDAE
SUPERORDEM			RUTANAE	CELASTRANAE
ORDEM	CELASTRALES	CELASTRALES	CELASTRALES	CELASTRALES
FAMÍLIA	CELASTRACEAE	CELASTRACEAE	CELASTRACEAE	CELASTRACEAE
GÊNERO	<i>Maytenus</i>	<i>Maytenus</i>	<i>Maytenus</i>	<i>Maytenus</i>
ESPÉCIE	<i>Maytenus ilicifolia</i>	<i>Maytenus ilicifolia</i>	<i>Maytenus ilicifolia</i>	<i>Maytenus ilicifolia</i>

* a referência de 1980, de R.M.T. Dahlgren, refere-se à divisão e a classe, enquanto que a de 1989, de G. Dahlgren, viúva do primeiro autor, aos demais táxons.

Para cada novo epíteto específico descrito deve corresponder uma planta testemunho da descrição. Esta planta é designada como tipo. Para epítetos específicos muito antigos são aceitas estampas com desenhos da planta, sempre que o material-tipo é desconhecido. As exsicatas-tipo servem para comparação sempre que houver dúvida sobre a identidade de uma espécie. Monografias e floras obrigatoriamente baseiam-se na análise dos tipos, dando confiabilidade aos nomes, sinônimos e descrições de cada espécie. Essa análise é feita pelos botânicos que elaboram tais trabalhos.

4.4. Nomes populares

Nomes populares, comuns, vulgares ou vernaculares são regionais e não recebem importância, de modo geral, nos trabalhos científicos. Por outro lado, eles são úteis e importantes em trabalhos etnobotânicos, como fonte de informações sobre a cultura ou vocabulário de uma população, podendo dar indícios sobre a utilização popular de uma espécie. É importante destacar que uma planta pode receber vários nomes, de acordo com a região, como, por exemplo, a *Casearia silvestris* Sw. (família Flacourtiaceae), que é conhecida por chá-de-bugre e erva-de-bugre no Rio Grande do Sul e Estados do sul do Brasil, e por guaçatonga, guaçatunga ou língua-de-lagarto em outras regiões do país. Por outro lado, o mesmo nome popular pode significar diferentes espécies, como, por exemplo, a marcela ou macela, que tanto pode ser duas espécies nativas de Asteraceae do gênero *Achyrocline* (*A. satureioides* (Lam.) DC. e *A. vauthieriana* DC.), bem como *Chamaemelum nobile* (L.) All. (= *Anthemis nobilis* L.), mais comumente conhecida como camomila-romana. O nome macela, para esta última planta, é usado em Portugal (Font Quer, 1978) e possivelmente os imigrantes, ao chegarem ao Brasil, procurando por plantas de igual uso, deram esse nome às nossas espécies. No nordeste brasileiro esta designação popular é utilizada para *Egletes viscosa* (L.) Less.. Por outro lado,

o nome camomila é usado para *Chamaemelum nobile* (L.) All. (= *Anthemis nobilis* L.) e também para *Chamomilla recutita* (L.) Rausch. (= *Matricaria chamomilla* L. e *Matricaria recutita* L.), ambas da família Asteraceae. Talvez o melhor exemplo seja o de plantas conhecidas popularmente como erva-cidreira. Esse nome popular é usado para *Aloysia citrodora* Palau (família Verbenaceae), *Lippia alba* L. (família Verbenaceae), *Melissa officinalis* L. (família Lamiaceae) e *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf (família Poaceae), entre outras espécies. É interessante observar que os nomes de certos medicamentos de uso corrente pela população - infalvina, penicilina, iodo, melho-ral - têm sido largamente utilizados para designar algumas plantas medicinais de diferentes gêneros ou famílias botânicas.

5. CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS IMPORTANTES NA IDENTIFICAÇÃO DE PLANTAS

Cada espécie vegetal tem algumas características exclusivas. Quando várias características são comuns a várias espécies, elas deverão estar agrupadas em um gênero. Diversos gêneros com determinadas características em comum fazem parte de uma família.

Quais características morfológicas são determinantes para delimitar uma família, gênero ou espécie? Não existe uma resposta para essa questão, pois, para cada espécie ou grupo de espécies, é possível encontrar uma variação entre elas. Nos primeiros sistemas, como o de Teofrasto (300 a.C.), o hábito era considerado como fator determinante. Assim, havia os grupos das plantas herbáceas, arbustivas e arbóreas (Bezerra e Fernandes, 1989). Na era Lineana as características florais foram utilizadas como mais importantes. Nos sistemas atuais, além das estruturas reprodutivas e vegetativas, características anatômicas, embriológicas e químicas são consideradas em um mesmo nível de importância na delimitação dos táxons.

Na caracterização de uma espécie, para sua determinação ou identificação, usualmente se inicia por observar as estruturas maiores, macroscópicas. Assim, se a planta que se tem em mãos é uma erva, observa-se como é sua morfologia externa, desde a ramificação da raiz, forma do caule, forma e disposição das folhas (filotaxia) e organização das flores. Se o material disponível é um ramo de um arbusto ou árvore, a observação deve levar em conta os últimos itens mencionados, isto é, a filotaxia e a organização das flores. Também pode ser muito importante a observação dos frutos e sementes, que, para algumas espécies, são imprescindíveis para a identificação. Existem vários livros sobre a morfologia externa das plantas em português ou espanhol. Além deles, são úteis dicionários ou glossários de termos técnicos, como Font Quer (1977 ou várias outras edições) e Ferri et al. (1990). Após a observação do material a ser identificado, é necessário que sejam utilizadas chaves de iden-

tificação. Existem chaves exclusivas para a identificação de famílias, além de outras específicas para cada família, tribo ou gênero. As chaves de identificação, na maioria das vezes são dicotômicas, isto é, oferecem duas opções para escolha. O exemplo a seguir, adaptado de Joly (1977), ilustra didaticamente o funcionamento de uma chave:

- 1a. Sementes nuas, isto é, não contidas dentro de um fruto, inseridas sobre folhas carpelares abertas ou na extremidade dos ramos. Gymnospermae.
- 1b. Sementes inseridas dentro de um fruto. Magnoliophyta (Angiospermae).
 - 2a. Feixes vasculares do caule dispersos. Folhas geralmente paralelinérveas, em regra com bainha. Flores trímeras. Embrião com um cotilédone. Liliopsida (Monocotyledoneae).
 - 2b. Feixes vasculares do caule dispostos concêntricamente, formando um cilindro. Folhas de nervação reticulada, em regra sem bainha. Flores geralmente tetrâmeras ou pentâmeras. Embrião com dois cotilédones. Magnoliopsida (Dicotyledoneae).

Para quem não está habituado com a terminologia, recomenda-se a utilização de dicionários e manuais de morfologia externa. Os melhores são aqueles acompanhados de ilustrações. As chaves mais usadas no Brasil, para a identificação de famílias, são as de Vianna Freire, republicadas e modificadas por Thames (1977), Pereira e Agarez (1980) e por Andreata e Travassos (1994), além das de Hutchinson (1969), Goldberg e Smith (1975) e Joly (1977). Chaves para identificação de gêneros ocorrentes no Brasil podem ser encontradas em L. Barroso (1946) e Barroso et al. (1978, 1984, 1986) ou em monografias e floras. Chaves para espécies devem ser procuradas em monografias e floras. As chaves para gêneros e espécies encontradas em Dimitri (1978-1980) são importantes para plantas da Região Sul do Brasil, especialmente as cultivadas. Ao obter a indicação do nome de uma espécie através de uma chave, é necessário confrontar o material (ramo da planta ou exsiccata) com a descrição e ilustrações, pois o resultado da chave pode não ser suficiente. Nem todas as espécies de uma região estarão necessariamente em uma monografia.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDREATA, R.; TRAVASSOS, O. *Chaves para determinar as famílias de: Pteridófitas, Gimnospermas e Angiospermas*. Rio de Janeiro: Santa Úrsula, 1994. 134p.
- ARMADA, J.; BARRA, A. On *Aloysia* Palau (Verbenaceae). *Taxon*, v. 41, p. 88-90, 1992.
- BALICK, M.J. 1994. Ethnobotany, drug development and biodiversity conservation - exploring the linkages. In: DEREK, J.C.; MARSH, J. (ed.). *Ethnobotany and the search for new drugs*. Chichester: John Wiley & Sons, 1994. p.4-24.

- BARROSO, G.M. (GUIMARÃES, E.F.; ICHASO, C.L.F.; COSTA, C.G.; PEIXOTO, A.L.) *Sistemática de angiospermas do Brasil*. v.1. Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos; São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, 1978. 255 p.
- BARROSO, G.M.; PEIXOTO, A.L.; COSTA, C.G.; ICHASO, C.L.F.; GUIMARÃES, E.F.; de LIMA, H.C. *Sistemática de angiospermas do Brasil*. v.2. Viçosa: Imprensa Universitária da Universidade Federal de Viçosa, 1984. 377p.
- _____. *Sistemática de angiospermas do Brasil*. v.3. Viçosa: Imprensa Universitária da Universidade Federal de Viçosa, 1986. 326p.
- BARROSO, L. J. *Chaves para determinação de gêneros indígenas e exóticos das Dicotiledôneas no Brasil*. 2.ed. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura, 1946. 272p.
- BEZERRA, P.; FERNANDES, A. *Fundamentos de Taxonomia Vegetal*. 2ed. Fortaleza: EUFC, 1989. 100p.
- BOLD, H.C.; ALEXOPOULOS, C.J.; DELEVORYAS, T. *Morphology of plants and fungi*. New York: Harpers & Row, 1987. 912p.
- BRUMMIT, R.K.; POWELL, C.E. *Authors of plant names*. Kew: Royal Botanic Gardens, 1992. 732p.
- CARVALHO-OKANO, R.M. *Estudos taxonômicos do gênero Maytenus Mol. emend. Mol. (Celastraceae) do Brasil extra-amazônico*. Campinas: Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, 1992. Tese de Doutorado, 253p.
- CLAYTON, W.D.; RENVOIZE, S.A. *Genera graminum: grasses of the world*. London: Royal Botanic Gardens, Kew. Kew Bulletin Additional Series, 13. 1986. 389p.
- CRONQUIST, A. *An integrated system of classification of flowering plants*. New York: Columbia University, 1981. 1262p.
- _____. *The evolution and classification of flowering plants*. New York: The New York Botanical Garden, 1988. 555p.
- DAHLGREN, R.M.T. A revised system of classification of the angiosperms. *Bot. J. Linnean Soc.*, v. 80, p. 91-124, 1980.
- DAHLGREN, G. The last Dahlgrenogram system of classification of the Dicotyledons. In: TAN, K. (ed.). *The Davis & Hedge Festschrift: Plant Taxonomy, Phytogeography and Related Subjects*. Edinburgh: University, 1989. p.249-260.
- DIMITRI, M.J. (ed.). *Enciclopedia Argentina de Agricultura y Jardineria*. 3.ed. ampliada y actualizada. Buenos Aires: ACME, 1978-1980. 2v. 1161p.
- FARMACOPÉIA BRASILEIRA. 2. ed. São Paulo: Siqueira. 1265p. 1959.
- FARMACOPÉIA BRASILEIRA. 3. ed. São Paulo: Andrei. 1213p. 1977.
- FARMACOPÉIA BRASILEIRA. 4. ed. São Paulo: Atheneu. pt. 2., fasc. 1. 1996.
- FERRI, M.G.; MENEZES, N.L.; MONTEIRO, J.R. *Glossário ilustrado de Botânica*. São Paulo: Nobel, 1990. 197p.
- FONT QUER, P. *Diccionario de botanica*. Barcelona: Labor, 1977. 1244p.
- FONT QUER, P. *Plantas medicinales - el Dioscórides renovado*. Barcelona: Labor, 1978. 1033p.
- FÖRTHNER, H. Die Geschichte des Martius-Herbariums: seine Brasilienkollektion und Empfehlungen zur Typenwahl. *Sendnerra*, v. 2, p.5-24, 1994.
- GOLDBERG, A.; SMITH, L.B. Chaves para as famílias Espermatofíticas do Brasil. In: REITZ, R. *Flora Ilustrada Catarinense*, Itajaí, 1975. p.1-204.
- GOTTLIEB, O.R.; BORIN, M.R. de M.B. Natural products research in Brazil. *Ciência e Cultura*, v. 49, n. 5-6, p. 315-320. 1997.
- GREUTER, W.; MCNEILL, J.; BARRIE, F.R.; BURDET, H.M.; DEMOULIN, V.;

- FILGUEIRAS, T.S.; NICOLSON, D.H.; SILVA, P.C.; SKOG, J.E.; TREHANE, P.; TURLAND, N.J.; HAWKSWORTH, D.L. International code of botanical nomenclature (Saint Louis Code) adopted by the Sixteenth International Botanical Congress, St. Louis, Missouri, August 1999. *Regnum Vegetabile*, 138. Königstein: Koeltz, 2000. 474p.
- HAWKES, J.G.; HJERTING, J.P. *The potatoes of Argentina, Brazil, Paraguay, and Uruguay*. Oxford: Clarendon, 1969. 511p.
- HUNZIKER, A.T. South American Solanaceae: a synoptic survey. In: HAWKES, J.G.; LESTER, R.N. e SKELDING, A.D. (ed.) *The Biology and Taxonomy of the Solanaceae*. London: Academic. (Linnean Society Symposium Series, 7), 1979. p.49-85.
- HUTCHINSON, J. *Key to the families of flowering plants of the world*. Oxford: Clarendon, 1968. 117p.
- JOLY, A.B. *Botânica - chaves de identificação das famílias de plantas vasculares que ocorrem no Brasil*. São Paulo: Nacional, 1977. 159p.
- JUDD, W.S.; CAMPBELL, C.S.; KELLOG, E. A.; STEVENS, P.F. *Plant systematics: a phylogenetic approach*. Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates, 1999. 464p.
- LUCKOW, M. The cultivated species of *Cassia*, *Senna*, and *Chamaecrista* (Leguminosae). *Baileya*, v. 23, n. 4, p. 195-242. 1996.
- LINNAEUS, C. *Species Plantarum*. Stockholm. 1753. 2v.
- MEJORADA, H.S. Suculentas. In: LOT, A.; CHIANG, F. *Manual de herbario: administración y manejo de colecciones, técnicas de recolección y preparación de ejemplares botánicos*. México: Consejo Nacional de la Flora de México, 1986. p.103-111.
- MELCHIOR, H. A. *ENGLER'S Syllabus der Pflanzenfamilien*. Berlin: Bornträger, 1964. 2v. 666p.
- PEREIRA, C.; AGAREZ, F.V. *Botânica: taxonomia e organografia dos Angiospermae - Chaves para identificação de famílias*. Rio de Janeiro: Interamericana, 1980. 190p.
- PHARMACOPÉIA BRASILEIRA. São Paulo: Nacional. 1149p. 1929.
- PRANCE, G.T.; BEENTJE, H.; DRANSFIELD, J.; JOHNS, R. The tropical flora remains undercollected. *Ann. Missouri Bot. Gard.*, v. 87, p. 67-71. 2000.
- RAVEN, P.H.; EVERT, R.F.; EICHHORN, S.E. *Biologia vegetal*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. 728p.
- STACE, C.A. *Plant taxonomy and biosystematics*. London: Edward Arnold, 1985. 279p.
- TAKHTAJAN, A.L. *Diversity and classification of flowering plants*. New York: Columbia University, 1997. 643p.
- THAMES, A.W. *Botânica sistemática - chave para a determinação dos vegetais até sub-classes ou ordens com exemplos explicativos*. 9.ed. Belo Horizonte: Andrade, 1977. 219p.

7. SUGESTÕES PARA LEITURA

Coleta e herborização

- FIDALGO, O.; BONONI, V.L.R. (coord.) *Técnicas de coleta, preservação e herborização de material botânico*. São Paulo: Instituto de Botânica, Secretaria do Meio Ambiente, 1989. (Série Documentos). 62p.

- LOT, A.; CHIANG, F. *Manual de herbario: administración y manejo de colecciones, técnicas de recolección y preparación de ejemplares botánicos*. México: Consejo Nacional de la Flora de Mexico, 1986. 142 p.
- MING, L.C. Coleta de plantas medicinais. In: DI STASI, L.C. (org.). *Plantas medicinais: arte e ciência; um guia de estudo interdisciplinar*. São Paulo: Editora da Universidade Estadual Paulista, 1996. p. 69-86.
- MORI, S.A.; SILVA, L.A.M.; LISBOA, G.; CORADIN, L. *Manual de manejo do herbário fanerogâmico*. 2.ed. Ilhéus: Centro de Pesquisas do Cacau, 1989. 104p.
- VIANNA FREIRE, C.; SAMPAIO, A.J. Como organizar herbários. In: *Vamos para o campo* n. 48. São Paulo: Chácaras e Quintais, 1949.

Taxonomia

- BARROSO, G.M.; GUIMARÃES, E.F.; ICHASO, C.L.F.; COSTA, C.G.; PEIXOTO, A.L. *Sistemática de angiospermas do Brasil*. Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos; São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, 1978. v.1. 255 p.
- BARROSO, G.M.; PEIXOTO, A.L.; COSTA, C.G.; ICHASO, C.L.F.; GUIMARÃES, E.F.; de LIMA, H.C. *Sistemática de angiospermas do Brasil*. Viçosa: Imprensa Universitária da Universidade Federal de Viçosa, 1984. v.2. 377p.
- BARROSO, G.M.; PEIXOTO, A.L.; COSTA, C.G.; ICHASO, C.L.F.; GUIMARÃES, E.F.; de LIMA, H.C. *Sistemática de angiospermas do Brasil*. Viçosa: Imprensa Universitária da Universidade Federal de Viçosa, 1986. v.3. 326p.
- CRONQUIST, A. *An integrated system of classification of flowering plants*. New York: Columbia University, 1981. 1262p.
- CRONQUIST, A. *The evolution and classification of flowering plants*. New York: The New York Botanical Garden, 1988. 555p.
- HEYWOOD, V.H. (ed.). *Flowering plants of the world*. London: Batsford, 1996. 335p.
- JUDD, W.S.; CAMPBELL, C.S.; KELLOG, E. A.; STEVENS, P.F. *Plant systematics: a phylogenetic approach*. Sunderland, Massachusetts: Sinauer, 1999. 464p.
- TAKHTAJAN, A.L. *Diversity and classification of flowering plants*. New York: Columbia University, 1997. 643p.

Morfologia

- BELL, A.D. *Plant form: an illustrated guide to flowering plant morphology* (with line drawing by Alan Bryan). Oxford: Oxford University, 1991. 341p.
- RADFORD, A.E. Plant description. In: RADFORD, A.E. (ed.). *Fundamentals of plants systematics*. New York: Harper & Row, 1986. p.107-146.
- VALLA, J.J. *Botánica: morfología de las plantas superiores*. 5.reimpr. Buenos Aires: Hemisferio Sur, 1987. 332p.

INTRODUÇÃO À ANÁLISE FITOQUÍMICA

AUTORES

Miriam de Barcellos Falkenberg
Rosana Isabel dos Santos
Cláudia Maria Oliveira Simões

SUMÁRIO DO CAPÍTULO

1. Introdução
2. Coleta
3. Preparação do material vegetal
4. Extração
5. Análise fitoquímica preliminar
6. Fracionamento, isolamento e purificação de substâncias
7. Elucidação estrutural
8. Referências bibliográficas
9. Sugestões para leitura

1. INTRODUÇÃO

A pesquisa fitoquímica tem por objetivos conhecer os constituintes químicos de espécies vegetais ou avaliar a sua presença. Quando não se dispõe de estudos químicos sobre a espécie de interesse, a análise fitoquímica preliminar pode indicar os grupos de metabólitos secundários relevantes na mesma. Caso o interesse esteja restrito a uma classe específica de constituintes ou às substâncias responsáveis por uma certa atividade biológica, a investigação deverá ser direcionada para o isolamento e a elucidação estrutural das mesmas.

Neste capítulo, serão apresentadas as diferentes etapas envolvidas na análise fitoquímica em geral; nos capítulos referentes às classes de compostos, aspectos específicos serão abordados. Havendo maior interesse em alguma das metodologias aqui abordadas, poderá ser consultada a literatura específica, algumas sugestões constam no final deste capítulo.

2. COLETA

A primeira etapa da investigação fitoquímica é a coleta do material vegetal. É essencial que se prepare uma exsiccata para a identificação botânica e que a seleção do material coletado seja feita com cuidado, evitando coletar partes do vegetal afetadas por doenças, parasitas e também materiais estranhos, tais como outras plantas ou mesmo partes da própria planta que não sejam de interesse para a investigação. Deve-se registrar o

local, a hora e a data da coleta, já que o meio ambiente, a hora do dia e a época do ano exercem grande influência sobre a produção e o acúmulo dos metabólitos vegetais (Alves e Pavani, 1991). Um modelo de ficha de dados encontra-se descrito no capítulo "Avaliação da qualidade de matérias-primas vegetais". Mesmo utilizando material vegetal fresco, há necessidade de preparação de exsicata. Maiores informações a esse respeito podem ser encontradas no capítulo "Nomenclatura botânica, classificação e identificação de plantas medicinais".

3. PREPARAÇÃO DO MATERIAL VEGETAL

A utilização de material vegetal fresco pode ser indispensável para a detecção de alguns componentes específicos. Seu emprego traz a vantagem de evitar a presença de substâncias oriundas do metabolismo de fenecimento vegetal. Por outro lado, o material deve ser processado imediatamente ou conservado, até a análise, a baixas temperaturas.

Já o emprego de material vegetal seco, empregado devido à sua maior estabilidade química, exige cuidados especiais, a fim de interromper os processos metabólicos que ocorrem mesmo após a coleta da planta.

3.1. Estabilização e secagem

No caso de execução da análise fitoquímica em tempo distante da coleta, o material vegetal deve ser imediatamente tratado, de forma a impedir a ação enzimática e, assim, evitar a alteração dos compostos químicos originalmente presentes no vegetal. Esse objetivo é alcançado pela estabilização, que consiste na desnaturação protéica das enzimas celulares, através da destruição das suas estruturas quaternária e terciária, seja pela ação de agentes desidratantes, tais como o etanol, ou por ação do calor. Praticamente, isso pode ser conseguido pela imersão do material vegetal em etanol em ebulição ou por operação de secagem em alta temperatura (acima de 60°C) e curto tempo de exposição (List e Schmidt, 1989; Harborne, 1973).

A secagem tem por finalidade a retirada de água e, com isso, impedir reações de hidrólise e de crescimento microbiano. A umidade residual dependerá do tipo de órgão que constitui o material vegetal (Bacchi, 1996).

A operação se caracteriza pela exposição a temperaturas relativamente baixas, normalmente inferiores a 60°C, e a longo tempo de contato, em geral, em torno de 7 dias. A secagem será tanto mais rápida quanto mais dividido estiver o material vegetal a secar, pois, deste modo, oferecerá uma maior superfície à evaporação. Pelo mesmo motivo, o material vegetal deverá ser disposto em camadas finas. A secagem pode ser realizada ao ar livre ou com a utilização de ar quente, em estufas. Obviamente, a secagem ao ar livre é mais econômica, embora exija maior vigilância para garantir a

uniformidade das condições durante a operação. Preferentemente, deve ser realizada à sombra, já que a irradiação solar pode alterar a constituição química do material. O local deverá ser convenientemente seco e protegido contra o ataque de insetos ou contaminantes ambientais e é prática usual dispor o material sobre papel para absorção da umidade. Na secagem por ar quente empregam-se estufas equipadas com um termostato, o que garante a manutenção de uma temperatura constante durante o tempo desejado. É também conveniente deixar escapar o ar da estufa, a fim de evitar sua saturação com o vapor d'água que vai sendo desprendido do material a secar. A velocidade com que o ar circula na estufa tem grande importância na obtenção de uma boa secagem. Os modelos de estufa providos de um sistema de circulação forçada de ar são mais eficazes. A circulação forçada provoca a renovação constante do ar, removendo o ar saturado de umidade, permitindo que a secagem se processe mais facilmente. A operação de secagem, independente de como é feita, propicia a redução de volume e de peso e facilita a moagem dos materiais (Prista et al., 1981).

3.2. Moagem

A moagem tem por finalidade reduzir, mecanicamente, o material vegetal a fragmentos de pequenas dimensões, preparando-o, assim, para a próxima etapa, a extração. O aumento da área de contato entre o material sólido e o líquido extrator torna mais eficiente a operação. A escolha das dimensões mais apropriadas depende também da textura do órgão vegetal. Quanto mais rígidos forem os tecidos, maior será o grau de divisão necessário.

As metodologias utilizadas para reduzir de tamanho o material vegetal são escolhidas conforme as características deste. Uma divisão grosseira pode ser efetuada por seccionamento (através de tesouras, podões ou facas), por impacto (redução a fragmentos por meio de choques repetidos efetuados, por exemplo, em gral) e por rasuração (através de raspadores ou processadores de alimentos).

A pulverização propriamente dita também pode ser obtida em gral, com a opção do emprego de um intermédio, ou seja, adicionando uma substância estranha que facilita a pulverização do material vegetal, ou de um moinho. Os tipos de moinhos mais utilizados para materiais vegetais e os critérios de escolha são apresentados no capítulo "Desenvolvimento tecnológico e produção de fitoterápicos".

4. EXTRAÇÃO

4.1. Considerações gerais

Antes de executar uma extração, deve-se levar em consideração uma série de fatores que interferem nesta operação, tais como as características do material vegetal, o seu grau de divisão, o meio extrator (solvente) e a metodologia.

Conforme foi citado no item anterior, o grau de divisão do material irá influenciar diretamente a eficiência da extração. A estrutura histológica das diversas partes componentes de uma planta é bastante heterogênea; existem órgãos, como as raízes e os caules, cujos tecidos estão extraordinariamente compactados (xilema), ao passo que em folhas e flores os tecidos se apresentam com textura mais delicada. Como o poder de penetração dos solventes depende, entre outros fatores, da consistência dos tecidos que formam o material a extrair, é necessário considerar que quanto mais rígido for o material menor deve ser sua granulometria.

O solvente escolhido deve ser o mais seletivo possível. É graças à seletividade que se pode extrair apenas as substâncias desejadas ou em maior quantidade. Como a seletividade depende da polaridade, o conhecimento do grau de polaridade do grupo de substâncias que se deseja preferencialmente extrair determina o solvente ou mistura solvente que mais se aproxima do ótimo de seletividade para aquela extração. Em análises fitoquímicas, quando não se conhece previamente o conteúdo do material a ser analisado, costuma-se submeter o material vegetal a sucessivas extrações, com solventes de polaridade crescente, conseguindo-se, assim, uma extração fracionada, em que as diferentes frações contêm compostos de polaridade também crescente. Seguem alguns exemplos dos solventes, em ordem crescente de polaridade, mais utilizados e os respectivos grupos de metabólitos majoritariamente encontrados nos diferentes extratos:

Solvente	Tipos de substâncias preferencialmente extraídas
éter de petróleo, hexano; tolueno, diclorometano, clorofórmio;	lipídeos, ceras, pigmentos, furanocumarinas; bases livres de alcalóides, antraquinonas livres, óleos voláteis, glicosídeos cardiotônicos;
acetato de etila, <i>n</i> -butanol; etanol, metanol;	flavonóides, cumarinas simples; heterosídeos em geral;
misturas hidroalcoólicas, água; água acidificada;	saponinas, taninos; alcalóides;
água alcalinizada;	saponinas.

A extração de determinadas substâncias ainda pode ser influenciada pelo pH do líquido extrator. O exemplo clássico é a extração de alcalóides (substâncias de natureza alcalina) com soluções ácidas.

Praticamente todos os constituintes de interesse para a análise fitoquímica apresentam alguma solubilidade em misturas etanólicas ou metanólicas a 80%, de tal modo que estas costumam ser empregadas com frequência.

Na escolha de um solvente, além dos fatores relacionados à eficiência do processo extrativo devem ainda ser considerados a toxicidade e/ou os riscos que seu manuseio representa, a estabilidade das substâncias extraídas, a disponibilidade e o custo do solvente.

Os fatores relacionados aos métodos de extração dizem respeito à agitação, à temperatura e ao tempo necessário para executá-los. Levando-se em conta que os processos de extração dependem, em grande parte, de fenômenos de difusão e que a renovação do solvente em contato com as substâncias a dissolver desempenha um papel de grande influência na velocidade da dissolução, pode-se concluir que a agitação pode abreviar consideravelmente a duração de um processo extrativo.

O aumento da temperatura provoca um aumento da solubilidade de qualquer substância, motivo pelo qual os métodos de extração a quente são sempre mais rápidos do que aqueles realizados à temperatura ambiente. Entretanto, o calor nem sempre pode ser empregado, já que muitas substâncias são instáveis em altas temperaturas.

O tempo de extração varia em função da rigidez dos tecidos do material vegetal e do seu estado de divisão, da natureza das substâncias a extrair, do solvente e do emprego - ou não - de temperatura e/ou agitação.

Na escolha de um método extrativo, deve-se avaliar a eficiência, a estabilidade das substâncias extraídas, a disponibilidade dos meios e o custo do processo escolhido, considerando a finalidade do extrato que se quer preparar. Como a composição química das plantas é extremamente complexa, muito frequentemente ocorre a extração concomitante de vários tipos de substâncias, farmacologicamente ativas ou não, desejadas ou não. Por isso, deve-se primeiramente definir, com a maior precisão possível, o que se deseja obter. De acordo com essa definição e levando-se em consideração os fatores envolvidos no processo extrativo, pode-se escolher o método e o solvente que serão empregados.

4.2. Métodos de extração sólido/líquido

a) Extrações a frio

Os métodos de extração a frio são a turbolização, a maceração e a percolação, discutidos em detalhes no capítulo "Desenvolvimento tecnológico e produção de fitoterápicos".

Na turbolização, a extração ocorre concomitantemente com a redução do tamanho de partícula, resultado da aplicação de elevadas forças de cisalhamento. A redução drástica do tamanho de partícula e o consequen-

te rompimento das células favorece a rápida dissolução das substâncias, resultando em tempos de extração da ordem de minutos e o quase esgotamento da droga. Existem equipamentos próprios para o processo de turbulização. Em laboratório, para pequenas quantidades, pode-se realizar o processo com um liquidificador, atentando-se para a estabilidade da solução extrativa.

b) Extrações a quente em sistemas abertos

• *Infusão*

Na infusão, a extração se dá pela permanência, durante certo tempo, do material vegetal em água fervente, num recipiente tapado. A infusão é aplicável a partes vegetais de estrutura mole, as quais devem ser contundidas, cortadas ou pulverizadas grosseiramente, conforme a sua natureza, a fim de que possam ser mais facilmente penetradas e extraídas pela água

• *Decocção*

A decoção consiste em manter o material vegetal em contato, durante certo tempo, com um solvente (normalmente água) em ebulição. É uma técnica de emprego restrito, pois muitas substâncias ativas são alteradas por um aquecimento prolongado e costuma-se empregá-la com materiais vegetais duros e de natureza lenhosa.

c) Extrações a quente em sistemas fechados

• *Extração sob refluxo*

Consiste em submeter o material vegetal à extração com um solvente em ebulição, em um aparelho dotado de um recipiente, onde será colocado o material e o solvente, acoplado a um condensador, de forma que o solvente evaporado durante o processo seja recuperado e retorne ao conjunto. As mesmas precauções já mencionadas, com relação à termolabilidade de algumas substâncias, devem ser observadas.

• *Extração em aparelho de Soxhlet*

É utilizada, sobretudo, para extrair sólidos com solventes voláteis, exigindo o emprego do aparelho de Soxhlet. Em cada ciclo da operação, o material vegetal entra em contato com o solvente renovado; assim, o processamento possibilita uma extração altamente eficiente, empregando uma quantidade reduzida de solvente, em comparação com as quantidades necessárias nos outros processos extrativos, para se obter os mesmos resultados qualitativos e quantitativos.

5. ANÁLISE FITOQUÍMICA PRELIMINAR

Para algumas substâncias, em certos vegetais, podem-se realizar reações de caracterização diretamente sobre os tecidos do material vegetal,

conforme descrito no capítulo “Avaliação da qualidade de matérias-primas vegetais”. Entretanto, na maioria das vezes, para se proceder à caracterização de um determinado grupo de substâncias presentes em um vegetal, deve-se primeiro extrair essas substâncias com um solvente adequado, para, então, caracterizá-las no extrato.

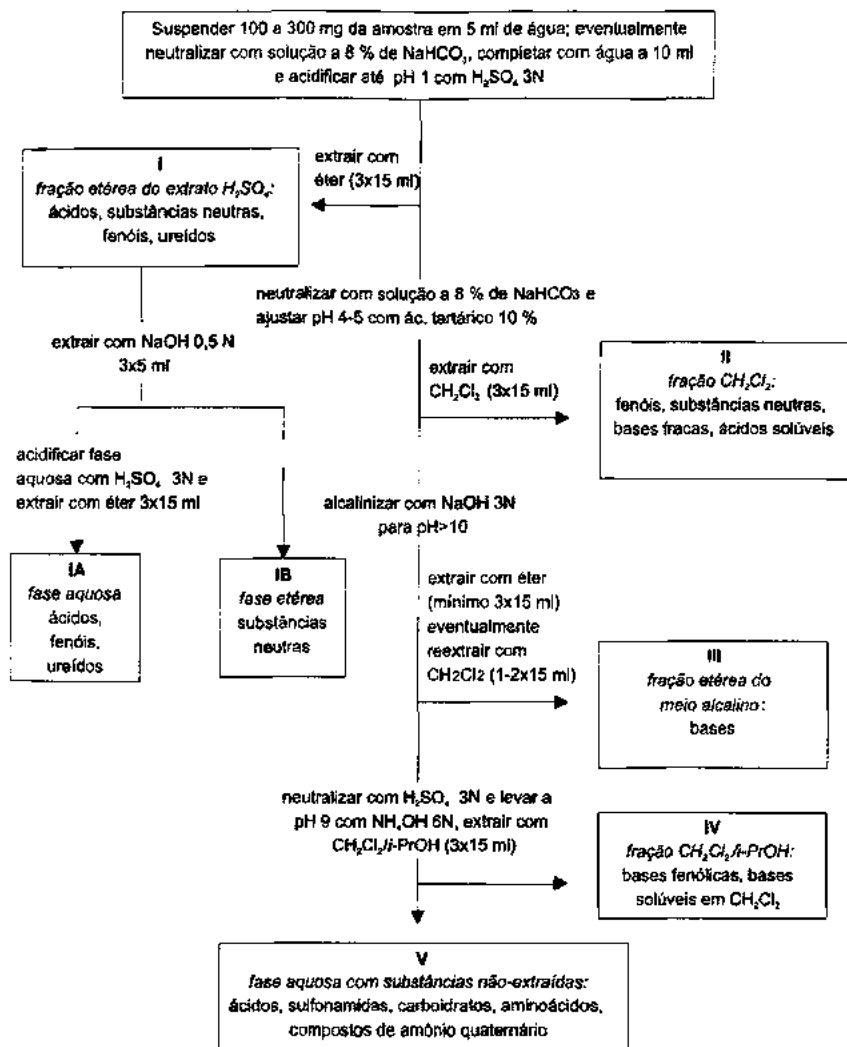
Classicamente, a caracterização dos principais grupos de substâncias vegetais de interesse tem sido conseguida pela realização de reações químicas que resultem no desenvolvimento de coloração e/ou precipitado característico. Para algumas reações, o extrato pode ser empregado diretamente, enquanto que, em outras, o solvente deve ser previamente eliminado. Usualmente, estas reações são realizadas em tubo de ensaio ou placa de toque, podendo também ser utilizada a detecção cromatográfica com reagentes específicos.

A realização das reações de caracterização diretamente no extrato bruto pode eventualmente mascarar o resultado. O fracionamento do extrato e a realização dos testes com as frações obtidas possibilita geralmente reações mais nítidas.

Um dos primeiros roteiros de análise sistemática de misturas complexas, foi proposto em 1850 pelo químico belga J.S. Stas e depois modificado pelo farmacêutico alemão F.J.Otto. Tal roteiro baseia-se em dois princípios:

- a) partição de substâncias entre duas fases imiscíveis, uma aquosa e outra orgânica;
- b) formação de sais com diferenças de solubilidade em relação às bases ou aos ácidos que lhes deram origem.

O esquema a seguir representa uma adaptação do roteiro clássico de Stas-Otto segundo Auterhoff e Kovar (1985) para amostras de 100 a 300 mg.



Esquema 1. Marcha sistemática segundo Stas-Otto

Algumas das principais reações de caracterização dos metabólitos secundários mais relevantes são apresentadas a seguir. Nos capítulos específicos para cada classe de substâncias podem ser encontradas informações mais detalhadas.

5.1. Cumarinas

A caracterização das cumarinas no extrato pode ser feita pela observação do mesmo sob luz ultravioleta (360 nm), pois a maioria possui fluorescência azul-brilhante ou verde. As cumarinas em solução alcalina desenvolvem cor amarela, devido ao rompimento do anel lactônico. Essa reação é revertida pela adição de uma solução ácida.

5.2. Polifenóis

Os polifenóis são substâncias redutoras e, portanto, oxidam-se com facilidade, resultando em substâncias coradas. A cor desses produtos de oxidação deve-se ao elevado grau de conjugação. Oxidantes, tais como o cloreto férrico (FeCl_3), são empregados para a caracterização de polifenóis em geral; nesse caso, a positividade é evidenciada pelo desenvolvimento de coloração azul ou verde-azulada. A classe específica a que pertencem os polifenóis assim detectados deve ser melhor caracterizada por reações particulares de cada grupo.

5.2.1. Flavonóides

O teste da cianidina ou Shinoda (HCl concentrado e magnésio em pó) costuma ser empregado na detecção de flavonóides por ser característico para o maior número de substâncias desta classe. Através dessa reação, podem-se caracterizar compostos contendo um núcleo α -benzopirona, pelo desenvolvimento de cor laranja a vermelha. Caso a observação da cor, após o desenvolvimento da reação, for prejudicada pela presença de outros pigmentos no extrato, este poderá ser desengordurado previamente com éter de petróleo. Como a maioria dos heterosídeos de flavonóides é bastante polar, há pouco risco de perdas com a utilização deste solvente. Uma exceção seria o caso de certas flavonas metoxiladas, que ocorrem na superfície de folhas e são extraídas com clorofórmio.

5.2.2. Taninos

Os taninos podem ser caracterizados por reações de coloração ou de precipitação. Como a presença de álcool pode interferir, ele deve ser removido. As reações tradicionais de precipitação com gelatina ou pó de pele, sais de alcalóides e metais pesados são ainda utilizadas para a detecção de compostos desta classe. Taninos hidrolisáveis e condensados podem ser diferenciados através da reação de Stiasny (HCl concentrado e formol), ocorrendo precipitação destes últimos; no sobrenadante, pode-se detectar a presença dos taninos hidrolisáveis através, por exemplo, da reação com cloreto férrico, com desenvolvimento de cor azul.

5.2.3. Antraquinonas

Como os derivados antraquinônicos ocorrem nos vegetais em vários níveis de oxidação, o material a ser analisado deve ser convenientemente tratado para que ocorra uma oxidação total destes até antraquinonas. Isso pode ser conseguido submetendo-se o material vegetal ao aquecimento com mistura de KOH 0,5 M e peróxido de hidrogênio diluído. A reação característica para antraquinonas é conhecida como reação de Bornträger. O meio dessa reação é apolar e, por isso, ela é direcionada para a detecção de agliconas antraquinônicas. Assim, anteriormente à reação, deve-se proceder à hidrólise.

5.3. Alcalóides

As reações gerais para alcalóides baseiam-se na formação de complexos insolúveis (precipitados). Como resultados falso-positivos são bastante comuns para essas reações, previamente à análise o material a ser analisado deve ser submetido a extrações ácido/base. As reações gerais empregam os reagentes de Dragendorff (iodo-bismutato de potássio), Mayer (iodo-mercuro de potássio), Wagner (iodo-iodeto de potássio) e Bertrand (ácido sílico-túngstico).

5.4. Triterpenos e esteróides

A reação de Liebermann-Burchard (anidrido acético - ácido sulfúrico concentrado) é empregada para a detecção de esteróides e triterpenos; os primeiros desenvolvem coloração mutável com o tempo, enquanto que os últimos desenvolvem coloração estável (Hashimoto, 1970). Para a detecção de esteróides insaturados, também pode ser empregada a reação de Salkowsky (ácido sulfúrico concentrado). Antes de realizá-las, o etanol deve ser eliminado. Além disso, pode ser conveniente desengordurar o material com éter de petróleo, previamente aos ensaios.

5.4.1. Saponinas

Para detectar a presença de saponinas, emprega-se o teste de formação de espuma, estável na presença de ácidos minerais diluídos.

5.4.2. Glicosídeos cardiotônicos

A detecção da presença de glicosídeos cardiotônicos é realizada através de uma reação que caracteriza a existência do núcleo esteroidal, além de outras que detectam a presença de uma lactona insaturada em C-17 e dos desóxi-açúcares. Para isso, são empregadas, por exemplo, as reações de Kedde (solução etanólica do ácido 3,5-dinitrobenzóico e KOH alcoólico) e de Keller-

Killiani (ácido acético glacial, cloreto férrico e ácido sulfúrico concentrado), respectivamente.

6. FRACIONAMENTO, ISOLAMENTO E PURIFICAÇÃO DE SUBSTÂNCIAS

Os processos de fracionamento de extratos vegetais com vistas ao isolamento de substâncias ativas podem ser monitorados por ensaios direcionados para a avaliação da atividade biológica (Dey e Harborne, 1991). Mais recentemente, também vem sendo utilizado o monitoramento das frações por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a espectrofotômetro de ultravioleta e espectrômetro de massas (CLAE/UV/EM) ou de ressonância magnética nuclear (CLAE/RMN). Essa combinação possibilita direcionar as operações de fracionamento para o isolamento daqueles compostos considerados de maior interesse em função dos dados espectrais obtidos (Hostettmann et al., 1997).

6.1. Partição por solventes

Pode-se iniciar o fracionamento de um extrato vegetal através da partição por solventes orgânicos de polaridade crescente ou através da partição ácido-base. A partição implica uma dissolução seletiva e distribuição entre as fases de dois solventes imiscíveis. Esse fenômeno pode ser aplicado com vistas à separação de componentes de uma mistura. A concentração de cada um dos componentes em cada fase está relacionada com o coeficiente de partição ou distribuição apresentado por cada substância. Os melhores rendimentos de extração são obtidos quando o volume total de solvente a ser utilizado na partição é dividido em alíquotas (Galagovsky Kuran, 1995). Esse fracionamento por partição, que é um método de extração líquido/líquido, é realizado em um funil de separação.

6.2. Métodos cromatográficos

Os métodos cromatográficos são os procedimentos de separação e isolamento mais amplamente utilizados atualmente. Servem, também, para fins de identificação e análise de misturas e de substâncias isoladas; nesse caso, chama-se cromatografia analítica, enquanto a cromatografia que visa ao isolamento de compostos é dita cromatografia preparativa. A fase estacionária pode encontrar-se empacotada em coluna (aberta ou fechada) ou constituir uma superfície plana, como na cromatografia em papel e cromatografia em camada delgada.

Em geral, a técnica cromatográfica envolve as seguintes etapas:

- montagem da coluna ou placa: disposição adequada da fase estacionária

ria ou suporte e preparação da fase móvel;

- aplicação da amostra;
- desenvolvimento: passagem de um solvente escolhido - fase móvel - através da fase estacionária;
- revelação/visualização: localização das diferentes zonas de separação dos compostos e/ou
- extração das substâncias retidas na fase estacionária.

A cromatografia líquida divide-se em quatro modalidades, de acordo com o processo no qual se baseia a separação dos componentes da mistura a ser analisada:

a) cromatografia de partição: separação dos componentes de uma mistura com base nos seus coeficientes de partição entre dois solventes imiscíveis que constituem as fases móvel e estacionária;

b) cromatografia de adsorção: baseia-se na adsorção dos componentes de uma solução sobre a fase estacionária sólida constituída por partículas finas de adsorventes polares ou apolares - o componente que for mais fortemente atraído pelo adsorvente será deslocado pela fase móvel de forma mais lenta;

c) cromatografia de troca iônica: aplicada na separação de substâncias contendo grupamentos ionizáveis, como aminoácidos e alcalóides, baseia-se no intercâmbio de íons entre a fase móvel e resinas contendo grupos funcionais do tipo ácido sulfônico (resina aniônica ou trocadora de cátions) ou amônio quaternário (resina catiônica ou trocadora de ânions);

d) cromatografia de exclusão ou de filtração molecular: baseia-se no tamanho das moléculas do soluto que passam através da fase estacionária, constituída por um gel poroso: as moléculas maiores não conseguem penetrar nos poros e são arrastadas pela fase móvel, enquanto as moléculas de menor tamanho, capazes de entrar nos poros da fase estacionária são retidas por mais tempo no interior da coluna. Para este tipo de cromatografia utilizam-se géis derivados do dextrano, como o produto comercialmente conhecido como Sephadex (Gros et al., 1985; Collins e Braga, 1988).

Nessas categorias, enquadram-se várias técnicas de cromatografia líquida, as quais se diferenciam entre si pelos equipamentos e também pelo tipo de material usado como fase estacionária.

A cromatografia gasosa (CG) serve para separar componentes a partir de misturas de compostos voláteis. Através de reações químicas com derivados do silano, como o trimetilsilano, substâncias não-voláteis podem ser transformadas em produtos de baixo ponto de ebulição. Nas aplicações analíticas, é possível o acoplamento com um sistema de espectrometria de massas (CG/EM), que é extremamente útil na separação e identificação de estruturas, como por exemplo, de componentes de óleos voláteis.

A cromatografia líquida em coluna é uma das técnicas mais utilizadas para a separação ou isolamento de constituintes de extratos vegetais; ela é bastante versátil, uma vez que se podem utilizar colunas de diferentes tipos e dimensões, bem como diversas combinações de diversas fases móveis e estacionárias. Essa técnica pode ser realizada tanto em colunas de vidro, sob pressão atmosférica, quanto utilizando equipamentos especiais que permitem trabalhar com pressões maiores, aumentando a velocidade e a eficiência do processo de separação.

A cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE ou HPLC - *High Performance Liquid Chromatography*) utiliza colunas contendo o suporte/fase estacionária formado por partículas extremamente finas (3 a 10 μm), esféricas ou irregulares, homogêneas e densamente compactadas, que oferecem grande resistência ao fluxo da fase móvel, ou seja, requer uma pressão alta e fluxo livre de pulsação, para que a fase móvel flua a uma velocidade razoável através da coluna, o que torna a CLAE uma técnica mais cara. É possível trabalhar também com pressões inferiores, em equipamentos mais simples, como na cromatografia líquida a vácuo ou ainda com a cromatografia líquida de média pressão (Collins e Braga, 1988; Marston e Hostettmann, 1991). Entre os suportes mais comumente empregados encontram-se substâncias inorgânicas como gel de sílica e alumina (óxido de alumínio), que são geralmente utilizadas para separar compostos lipofílicos. Materiais orgânicos como celulose, poliamida e géis de dextrano aplicam-se na separação de substâncias hidrofílicas, como aminoácidos e açúcares. Outra alternativa utilizada são os materiais modificados quimicamente, como a celulose acetilada ou gel de sílica substituído por cadeias orgânicas alifáticas de C8 a C18. Separações cromatográficas em que a fase móvel é apolar e a fase estacionária é polar são denominadas de separações em fase normal, enquanto sistemas com fase móvel polar e fase estacionária apolar constituem as separações em fase reversa ou RP (= *reversed phase*) (Collins e Braga, 1988).

A cromatografia em camada delgada (CCD) é uma técnica amplamente utilizada para fins de análise, tanto de extratos vegetais brutos quanto para avaliar o resultado de um processo de separação. Eventualmente, utiliza-se também a CCD para fins preparativos, usando-se nesse caso, camadas suporte de maior espessura, que comportam uma quantidade maior de amostra. Semelhantemente à cromatografia em coluna, pode-se escolher entre dezenas de tipos de suportes, tanto de fase normal como reversa, dependendo da polaridade dos componentes da amostra a analisar. As placas para CCD podem ser confeccionadas nos próprios laboratórios através de um dispositivo que facilita o espalhamento uniforme, sobre as placas de vidro, da suspensão aquosa do suporte. O método de preparação manual é bastante econômico, mas requer certa prática; pode ser bastante satisfatório em certas análises de rotina, sobretudo naquelas que envolvem os suportes mais comuns, como o

gel de sílica. Pode-se encontrar no mercado uma grande variedade de placas cromatográficas preparadas industrialmente, em condições de padronização quanto ao tamanho das partículas do suporte, à espessura da camada (0,025 cm para fins analíticos e 0,2 cm para fins preparativos) e à ativação do suporte, possibilitando resultados mais reprodutíveis do que com as placas preparadas manualmente. Os suportes podem conter indicadores fluorescentes em 254 nm, com a especificação F₂₅₄, geralmente sobre base de vidro, celulósido ou alumínio. As duas últimas, além de inquebráveis, possibilitam que se recortem as placas em tamanho menor, se desejado. O desenvolvimento da CCD ocorre em uma cuba fechada, previamente saturada com a fase móvel. A aplicação das amostras nas cromatoplasas é feita a partir de soluções relativamente concentradas, tendo-se o cuidado de aplicar as mesmas com capilares, a uma distância adequada das bordas laterais e inferior, bem como das demais amostras. Na CCD preparativa, quando se deseja isolar uma substância de uma mistura, pode-se utilizar um número maior de placas com a mesma amostra, que é aplicada em linha ou barra. Recentemente vem-se utilizando CCD também para análise quantitativa, através da digitalização da placa e análise densitométrica das substâncias de interesse. Também são disponíveis atualmente placas de CCD de alta eficiência (*High Performance Thin Layer Chromatography - HPTLC*), assim como câmaras especiais para CCD horizontal, que possibilita grande economia de amostra e solvente (Rücker et al., 2001).

A eletroforese capilar é outra metodologia que vem sendo utilizada para identificação e doseamento de substâncias ativas em drogas vegetais (Günayd e Erim, 2002; Sáenz-López et al., 2002).

7. ELUCIDAÇÃO ESTRUTURAL

Os primeiros pesquisadores que se dedicaram à elucidação das estruturas de substâncias naturais não dispunham das técnicas de análise disponíveis atualmente e que permitem a elucidação mesmo de estruturas extremamente complexas, com amostras da ordem de miligramas ou menos. Aqueles pioneiros levavam às vezes anos tentando purificar e identificar uma única substância, pois os métodos de então eram pouco sensíveis e consumiam grandes quantidades de amostra, já que ela precisava ser submetida a transformações químicas diversas (Phillipson, 1995).

Entre os métodos físicos de análise empregados atualmente na determinação estrutural, a espectrometria de massas, a espectroscopia no ultravioleta (UV), no visível e no infravermelho, bem como a ressonância magnética nuclear (RMN) de hidrogênio e carbono 13 constituem os mais amplamente empregados. As técnicas básicas sofreram muitas alterações nos últimos anos. Tais mudanças foram essencialmente frutos da revolução da informática (programas de computador, níveis de automação, formas de integração dos dados

obtidos), dos novos magnetos supercondutores e da sofisticação dos experimentos que podem ser realizados, resultando na dedução de uma estrutura coerente (Cordell, 1995; Holzgrabe et al., 1998). A interpretação de cada um desses espectros pode fornecer diferentes informações qualitativas e quantitativas a respeito da estrutura da substância em análise. Geralmente, é graças ao conjunto de dados espectrais que o pesquisador consegue elucidar completamente a estrutura de uma substância desconhecida. Essas informações servem também como instrumentos importantes para a avaliação da qualidade de fitoterápicos, tanto do ponto de vista qualitativo como quantitativo.

Na determinação estrutural, o espectro de absorção de uma substância no UV, uma vez determinado o esqueleto carbonado e o tipo de composto, indica a presença de certos grupos funcionais, bem como a posição dos substituintes no esqueleto da molécula (Rücker et al., 2001). Assim, por exemplo, os espectros UV de flavonóides proporcionam informações sobre a presença e a posição de grupamentos hidroxila no sistema de anéis, ao mesmo tempo em que possibilitam a diferenciação entre os vários tipos de flavonóides (maiores detalhes no capítulo “Flavonóides”).

O espectro infravermelho (IV) de uma substância orgânica corresponde ao conjunto de bandas de absorção apresentadas pela amostra submetida à radiação infravermelha e estas bandas correspondem às mudanças na energia vibracional dos compostos orgânicos. A energia seletivamente absorvida da radiação IV provoca alterações transitórias nas ligações interatômicas, que podem sofrer estiramentos ou deformações nos ângulos de ligação. As frequências em que ocorrem as vibrações dependem da natureza das ligações em particular, mas são também afetadas pela vizinhança química e pela molécula como um todo. A presença de insaturações (conjugadas ou não), sistemas aromáticos e grupos funcionais específicos pode ser verificada através da presença de bandas características, que têm grande importância na análise estrutural (Cirelli e Deluca, 1995). Se o espectro IV de uma substância desconhecida é superponível com o espectro IV de uma amostra autêntica conhecida, isso pode servir como uma prova de identidade, que é muitas vezes preconizada para a identificação de fármacos pelas farmacopéias. As quinonas constituem uma classe de metabólitos em que o espectro IV pode ser particularmente útil na elucidação estrutural, já que compostos com grupamento carbonila costumam apresentar uma banda intensa entre 1.650 e 1.800 cm^{-1} , sendo possível, através da localização exata dessa banda, caracterizar o tipo de grupo carbonílico presente na molécula (Rücker et al., 2001).

O espectro de massas (EM) de uma substância pode fornecer importantes informações relacionadas com a sua estrutura, como a massa molecular e padrões de fragmentação. O peso molecular permite estabelecer a fórmula molecular da substância, enquanto o padrão de fragmentação pode ajudar a caracterizar a presença, bem como a localização de certos grupos funcionais e cadeias laterais. O espectrômetro de massas pode ser acoplado a um apare-

lho de cromatografia gasosa (CG/EM), que permite tanto a identificação como a quantificação de componentes de baixo peso molecular, mesmo em misturas complexas. Essa técnica é muito utilizada para a análise de óleos voláteis.

A espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN) é uma das ferramentas mais valiosas para a determinação estrutural de compostos orgânicos, contribuindo para o estabelecimento do esqueleto da molécula. Para a obtenção de espectros de ressonância, submete-se a amostra a um campo magnético externo, de forma que determinados núcleos que apresentam um momento magnético nuclear (núcleos com número de massa ímpar como ^1H , ^{13}C , ^{31}P , por exemplo) podem entrar em ressonância com a radiofrequência aplicada, absorvendo energia eletromagnética em frequências características para cada núcleo, conforme sua vizinhança química. Os dados obtidos com esse método espectroscópico são muito importantes para a elucidação estrutural de praticamente todas as classes de produtos naturais, incluindo os metabólitos secundários vegetais. Os espectros de RMN de hidrogênio e carbono 13 são os mais utilizados e a sua interpretação permite caracterizar o número e o tipo de átomos de H e C, em função da localização e do desdobramento dos sinais correspondentes à absorção de energia eletromagnética. A grande variedade de técnicas disponíveis de RMN (COSY, NOESY, HETCOR, HMBC, INEPT, INADEQUATE, COLOC, entre outras) permite identificar a proximidade espacial ou mesmo a conectividade de alguns átomos em particular, auxiliando dessa maneira, na montagem do *quebra-cabeça* constituído pelas diferentes partes da molécula (Böcker, 1997; Cordell, 1995; Holzgrabe et al., 1997).

Outras análises, como a determinação da atividade óptica e a cristalografia por raios X, podem ser necessárias para o estabelecimento da estereoquímica de moléculas apresentando centros de assimetria. De qualquer maneira, será graças ao conjunto de informações obtidas através da interpretação dos diferentes espectros que se conseguirá estabelecer, de forma inequívoca, as estruturas de moléculas desconhecidas.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES, P.L. DE C.A.; PAVANI, M.C.M.D. *Instruções básicas para a coleta e preparo de material botânico a ser herborizado*. Jaboticabal: FUNEP, 1991.
- AUTERHOFF, H.; KOVAR, K.-A. *Identifizierung von Arzneistoffen*. Stuttgart: Wissenschaftliche, 1985.
- BACCHI, E.M. Controle de qualidade de fitoterápicos. In: DI STASI, L.C. (org.). *Plantas medicinais: arte e ciência*. São Paulo: Universidade Estadual Paulista, 1996. p. 169-197.
- BÖCKER, J. *Spektroskopie*. Würzburg: Vogel, 1997.
- CIRELLI, A.F.; DELUCA, M.E. *Aprendiendo Química Orgánica: estructura y reactividad*. Buenos Aires: Eudeba, 1995.
- COLLINS, C.H.; BRAGA, G.L. (coord.). *Introdução a métodos cromatográficos*. 3.ed. Campinas: Unicamp, 1988.

- CORDELL, G.A. Changing strategies in natural products chemistry. *Phytochemistry*, v. 40, n. 6, p. 1585-1612, 1995.
- DEY, P.M.; HARBORNE, J.B. (ed.). *Methods in plant biochemistry*. San Diego: Academic, 1991. v.6
- GALAGOVSKY KURMAN, L. *Química orgánica: fundamentos teórico-prácticos para el laboratorio*. Buenos Aires: Eudeba, 1995.
- GROS, E.G.; POMILIO, A.B.; SELDES, A.N.; BURTON, G. *Introducción al estudio de los productos naturales*. Washington: OEA, 1985.
- GÜNAYD, K.; ERIM, F.B. Determination of khellin and visnagin in *Ammi visnaga* fruits by capillary electrophoresis. *Journal of Chromatography A*, v.954, n.1-2, p.291-294, 2002.
- HARBORNE, J.B. *Phytochemical methods. A guide to modern techniques of plant analysis*. London: Chapman and Hall, 1973.
- HASHIMOTO, Y. Diferenciação de esteróides e triterpenóides pela reação corada. *Anais Acad. Bras. Ciênc.*, v. 42 (supl.), p. 95-96, 1970.
- HOLZGRABE, H.; DIEHL, B.W.K.; WAWER, I. NMR spectroscopy in pharmacy. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, v. 17, 1998, p. 557-616.
- HOSTETTMANN, K.; WOLFENDER, J.-L.; RODRIGUEZ, S. Rapid detection and subsequent isolation of bioactive constituents of crude plant extracts. *Planta Med.* v. 63, n. 1, p. 2-10, 1997.
- LIST, P.H.; SCHMIDT, P.C. *Phytopharmaceutical technology*. London: Heyden, 1989.
- MARSTON, A.; HOSTETTMANN, K. Modern separation methods. *Nat. Prod. Rep.*, p. 391-413, 1991.
- PHILLIPSON, J.D. A matter of some sensitivity. *Phytochemistry*, v. 38, n. 6, p. 1319-1343, 1995.
- PRISTA, L.N.; ALVES, A.C.; MORGADO, R.M.R. *Técnica farmacêutica e farmácia galênica*. 3.ed. Lisboa: Calouste Gulbenkian, 1981. v.1.
- RÜCKER, G.; NEUGEBAUER, M.; WILLEMS, G.G. *Instrumentelle pharmazeutische Analytik*. Stuttgart: Wissenschaftliche, 1988.
- SÁENZ-LÓPEZ, R.; FERNÁNDEZ-ZURBANO, P.; TENA, M.T. Capillary electrophoretic separation of phenolic diterpenes from Rosemary. *J. Chromatogr. A*, v. 953, n. 1-2, 2002, p. 251-256.

9. SUGESTÕES PARA LEITURA

- BALDWIN, M.A. Modern mass spectrometry in bioorganic analysis. *Nat. Prod. Rep.*, p. 33-44, 1995.
- MARINI-BETTOLO, G.B. *Preliminary chemical screening of medicinal plants in field conditions*. WHO, DPM/80.5. 1980. 19p.
- SEWELL, P.A.; CLARKE, B. *Chromatographic separation*. New York: John Wiley, 1994.
- TSAI, T.-H. Analytical approaches for traditional Chinese medicines exhibiting antineoplastic activity. *J. Chromatogr. B*, v. 764, n. 1-2, 2002, p. 27-48.
- WAGNER, H.; BLADT, S. *Plant drug analysis. A thin layer chromatography atlas*. 2.ed. Berlin: Springer, 1995.
- WOLFENDER, J.-L.; HOSTETTMANN, K. Applications of liquid chromatography-mass spectrometry to the investigation of medicinal plants. In: ARNASON, J.T.; MATA, R.; ROMEO, J.T. (ed.). *Recent advances in phytochemistry*. v. 29: Phytochemistry of medicinal plants. New York: Plenum, 1995.

FARMACOLOGIA E TOXICOLOGIA DE PRODUTOS NATURAIS

AUTORES

Antonio José Lapa
Caden Souccar
Maria Teresa R. Lima-Landman
Rosely Oliveira Godinho
Thereza Christina M. de Lima Nogueira

SUMÁRIO DO CAPÍTULO

1. Introdução
2. A planta medicinal como medicamento
3. Estudos pré-clínicos de novos medicamentos
4. Etapa de ensaios biológicos pré-clínicos
5. Por que validar fitoterápicos?
6. Referências bibliográficas
7. Sugestões para leitura

1. INTRODUÇÃO

A idéia primordial na indicação do uso de fitoterápicos na medicina humana não é substituir medicamentos registrados e já comercializados, mas sim aumentar a opção terapêutica dos profissionais de saúde ofertando medicamentos equivalentes, também registrados, talvez mais baratos, com espectros de ação mais adequados e, quiçá, com indicações terapêuticas complementares às medicações existentes, mas sempre em estrita obediência aos preceitos éticos que regem o emprego de xenobióticos na espécie humana. Objetivos secundários, mas não menos importantes, seriam a valorização das tradições populares e o fornecimento de substrato autóctone para o desenvolvimento da indústria farmacêutica local.

De uso quase exclusivo na terapêutica medicamentosa até a década de 1950, os remédios vegetais foram paulatinamente substituídos nas farmácias por medicamentos contendo as substâncias ativas deles extraídos ou seus derivados sintéticos. A razão mais importante para essa mudança foi o difícil controle de qualidade – químico, físico-químico, farmacológico ou toxicológico – dos extratos vegetais então utilizados. Em consequência, poucas foram as plantas medicinais estudadas segundo protocolos mais modernos, remontando, a maioria das informações disponíveis, à década de 1950, obsoletas, portanto, frente ao estágio atual do conhecimento científico.

Não é atribuição deste tópico discutir as práticas e programas sociais utilizando produtos naturais,

mas é oportuno considerar, aqui, o impacto social que o uso não-controlado das plantas medicinais tem no atendimento primário à saúde.

Entre os adeptos da fitoterapia, é comum o pensamento de que as plantas medicinais de uso tradicional já foram testadas e homologadas pelo seu uso prolongado na própria espécie humana. Por isso, seriam remédios eficazes e seguros, naturalmente balanceados, sem os efeitos colaterais comuns aos produtos sintéticos, não necessitando, portanto, da avaliação exigida para esse tipo de medicamento. A automedicação milagrosa com plantas medicinais, chegando ao extremo de substituir terapias heróicas em doenças graves, é caudatária dessa crença infundada, tendo-se tornado prática comum nos países em desenvolvimento. Não são incomuns atos de má fé na sua exploração comercial, como tem ocorrido, por exemplo, com *plantas que curam o câncer*. Nas camadas populares menos privilegiadas, mas não exclusivamente, o consumo das plantas milagrosas é estimulado pela propaganda comercial agressiva e pela atuação fraca dos organismos estatais responsáveis pela vigilância sanitária. Nas camadas mais privilegiadas, que gozam de facilidades sanitárias e pronto atendimento médico, a crença também é explorada como moda naturalista, muitas vezes prestigiada por movimentos sociais ecológicos, idealistas e de boa penetração.

É inegável, no entanto, que a maioria da população de baixa renda recorre às plantas medicinais como único lenitivo para seus males. No Brasil, por exemplo, o comércio interno de medicamentos registrados foi de 2,9 bilhões de dólares americanos em 1992 (IMS, 1992), o que correspondia a um consumo médio *per capita* de 20 dólares anuais. Com essa soma irrisória é possível adquirir dez embalagens de um analgésico comum; ou quatro dias de tratamento com antibiótico; ou uma ampola de antiviral; ou um mês de tratamento com anti-hipertensivo de última geração, *por ano*. As estimativas de 1997 a 2000 colocam o mercado brasileiro no 7º lugar do mundo, com vendas que atingem 11,5 bilhões de dólares americanos (USDC, 1999), o que corresponde a um consumo de 61 dólares *per capita* anual. Apesar disso, as estatísticas não mostram aumento das unidades de produtos vendidos em relação ao período anterior, indicando, portanto, que o medicamento continua inacessível às classes menos privilegiadas (*Folha de São Paulo*, 1997). A interpretação desses dados evidencia que o comércio de medicamentos, no Brasil, atende apenas à faixa da população economicamente ativa (cerca de 30 %), supondo-se que os restantes 130 milhões de habitantes utilizem produtos de venda não registrada para minorar suas dores e corrigir distúrbios funcionais de fácil percepção. É nesse contexto social que as plantas medicinais e os fitoterápicos adquirem importância como agentes terapêuticos e, por isso, devem ser prioritariamente analisados segundo os métodos modernos disponíveis.

A planta medicinal utilizada em medicamentos é um xenobiótico, isto é, um produto estranho ao organismo humano, nele introduzido com finali-

dades terapêuticas. Como todo corpo estranho, os produtos de sua biotransformação são potencialmente tóxicos e assim devem ser encarados até prova em contrário. De fato, não há por que, *a priori*, considerar inócua uma planta medicinal, se do reino vegetal são obtidas substâncias extremamente tóxicas como a estricnina, a digitoxina, os curares e os heterosídeos cianogênicos. Por outro lado, ao se analisar a efetividade de um infuso, tintura ou cápsula de uma ou várias plantas medicinais, é preciso considerar que o efeito obtido pode ser devido a uma ação placebo de substâncias inertes, eficazes no estresse, na hipertensão, nas palpitações, na ansiedade, na dispnéia, nas úlceras gástricas e nas dores as mais variadas, ou na cura de distúrbios auto-limitados como diarréias, vômitos, tosse, resfriados e cólicas, ou, ainda, de sintomas mal definidos como indisposição geral, astenia, nervosismo e males do fígado. Deve-se ponderar, também, que a auto-sugestão e a esperança de cura podem aliviar sintomas e induzir o paciente a desconsiderar sinais importantes, retardando o atendimento médico em patologias graves, como no câncer mamário, com consequências às vezes irremediáveis. Do ponto de vista toxicológico, deve-se considerar que uma planta medicinal ou um fitoterápico não tem somente efeitos imediatos e facilmente correlacionados com a sua ingestão, mas lembrar, principalmente, os efeitos que se instalam a longo prazo e de forma assintomática, como os carcinogênicos, hepatotóxicos e nefrotóxicos, a exemplo do que ocorreu recentemente no Brasil com os extratos do cânfora (*Symphytum officinale* L.) (Hirano et al., 1978; Abbott, 1988; Yeong et al., 1991, 1993; Brasil, 1992). De forma semelhante e tão importante é o caso do ácido aristolóquico encontrado em espécies de *Aristolochia* (como, por exemplo, o cipó-mil-homens), usadas em casos de gota, artrites, reumatismo e doenças inflamatórias crônicas de pele. Estudos mostram que a exposição a esses ácidos tem resultado em um grande número de pacientes com deficiências renais chegando a alguns casos de morte (EMEA, 2000).

Portanto, o uso popular, e mesmo o tradicional, não são suficientes para validar eticamente as plantas medicinais como medicamentos eficazes e seguros. Nesse sentido, as plantas medicinais não se diferenciam de qualquer outro xenobiótico sintético e sua preconização, ou a autorização oficial do seu uso medicamentoso, devem ser fundamentadas em evidências experimentais comprobatórias de que o risco a que se expõem aqueles que a utilizam é suplantado pelos benefícios que possam advir (Brasil, 1995).

A avaliação desta segurança, ou seja, a avaliação da relação risco/benefício, é a finalidade dos estudos farmacodinâmicos e toxicológicos pré-clínicos e clínicos de medicamentos. Progressos nesse sentido ocorreram nos últimos 40 anos, após o acidente com a talidomida (Lenz, 1988) e, portanto, foram posteriores à época em que muitos fitoterápicos foram introduzidos no mercado. De modo geral, os protocolos propostos nestes estudos são exten-

sos e muito presos a questões éticas, mas permitem uma avaliação razoável da toxicidade e da efetividade de um medicamento.

Na sua essência, esses estudos visam a garantir o cumprimento dos preceitos éticos enunciados pela Organização Médica Mundial em 1964 - Declaração de Helsinki - revistos e atualizados em Tóquio (1975), Veneza (1983), Hong-Kong (1989) e traduzidos com muitas particularidades e detalhes nas *Diretrizes Éticas Internacionais Para Investigação Biomédica Envolvendo Seres Humanos* propostas pelo Conselho das Organizações Internacionais de Ciências Médicas e Organização Mundial da Saúde, em 1982, e publicadas em 1993 (WHO, 1993). No mesmo sentido, com a intenção declarada de estabelecer normas aplicáveis globalmente na pesquisa biomédica em seres humanos e facilitar a movimentação internacional de produtos farmacêuticos, a Organização Mundial de Saúde propôs o estudo das *Diretrizes para as Boas Práticas Clínicas (GCP) em ensaios de produtos farmacêuticos* (WHO, 1992), documento ainda em processo de revisão.

Praticamente todos os países do mundo adotaram a Declaração de Helsinki. No Brasil, os quatro conceitos bioéticos básicos (autonomia, não maleficência, beneficência e justiça) foram incorporados à Resolução 1/1988 do Conselho Nacional de Saúde (CNS), Ministério da Saúde (MS), posteriormente substituída pela Resolução 196/1996 (Brasil, 1996), que normatiza as pesquisas nessa área visando ao aprimoramento do conhecimento científico e à produção de insumos para o atendimento médico-hospitalar. Essa legislação reforça a preocupação primordial do profissional da saúde de não prejudicar o paciente (*primo non nocere* = primeiramente não causar dano); assim, os princípios éticos mencionados acima condenam a experimentação humana, mesmo em voluntários, de xenobióticos cujas ações não tenham sido avaliadas previamente em animais de laboratório (estudos pré-clínicos) e dos quais não existam evidências seguras de um índice terapêutico favorável ao uso proposto. No mesmo sentido, a prescrição indevida de remédios não registrados é eticamente condenada sempre que a importância do tratamento pretendido, para o indivíduo e para a comunidade, não for proporcional ao risco inerente de tal escolha (*utile per inutile non nocetur* = o inútil não deve substituir o que é útil). Essa preocupação é exemplificada com a indicação de placebos em patologias de terapêutica conhecida e consagrada. Ficou também estipulado que a experimentação humana só pode ser realizada por profissional qualificado, sob responsabilidade médica e *sub-judice* de uma comissão de ética independente, oficialmente credenciada pelo Conselho Nacional de Saúde.

Isso considerado, se a intenção é utilizar uma planta medicinal como medicamento, ela deve ser previamente validada, isto é, ter sua ação comprovada e sua toxicidade potencial avaliada cientificamente na espécie humana, como qualquer outro medicamento.

2. A PLANTA MEDICINAL COMO MEDICAMENTO

Para a finalidade desta exposição, os fitoterápicos, remédios vegetais, remédios herbários, ou simplesmente plantas medicinais, sob qualquer forma ou processamento, serão considerados como novos medicamentos para uso na espécie humana.

A Portaria 6/1995 da Secretaria de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde, reformulada pela Portaria 1029/1998 e finalmente substituída pela Resolução RDC ANVISA 17/2000, regulamenta as condições para registro de medicamentos fitoterápicos. Todas especificam que esses medicamentos devem ser preparados exclusivamente de plantas medicinais sem adição de substâncias ativas isoladas (Brasil, 1995; 1998; 2000).

A legislação brasileira mencionada acima (Resolução 196/1996 do Conselho Nacional de Saúde - MS) regulamenta as etapas das pesquisas pré-clínicas e clínicas para avaliação e registro de novos medicamentos. Além da adesão aos princípios éticos internacionais de *Boas Práticas Clínicas* (WHO, 1992), as resoluções incorporaram vários detalhes técnicos para a execução daqueles estudos. Esses detalhes não são particulares da legislação brasileira, podendo ser encontrados de forma expandida em publicações mais específicas (p. ex., em Hayes, 1984). Na realidade, cada país adaptou sua legislação atendendo às condições locais, umas mais exigentes que outras, mas, de modo geral, considerando as normas discutidas no documento-base da Organização Mundial da Saúde, elaborado com a finalidade de criar normas suscetíveis de aceitação geral (OMS, 1975). As legislações de vários países podem ser acessadas em duas publicações mais recentes (WHO, 1998; Garcia-Gonzales, 2000).

Os estudos de um novo medicamento costumam ser divididos em etapas sequenciais que se diferenciam essencialmente pelo sujeito da experimentação.

A *etapa botânica* está relacionada à identificação do material de estudo.

A *etapa farmacêutica* está relacionada ao preparo da forma farmacêutica para administração, com a garantia da qualidade e uniformidade da amostra, assim como com sua estabilidade durante os testes pré-clínicos e clínicos.

A *etapa de ensaios biológicos pré-clínicos* está relacionada aos ensaios farmacodinâmicos, farmacocinéticos e toxicológicos em animais de laboratório.

A *etapa clínica*, realizada na espécie humana, está dividida em 4 fases sequenciais realizadas apenas se existirem indicações seguras de que os benefícios do uso medicinal do novo produto suplantam os riscos de uma possível ação tóxica. Duas dessas fases são essencialmente acadêmicas, a terceira é multicêntrica e, finalmente, a quarta fase corresponde à livre uti-

lização do medicamento, sob vigilância dos serviços sanitários. Como não existem testes de novos fármacos *in anima nobile* sem risco intrínseco de reações adversas, o objetivo principal da etapa pré-clínica é o de determinar experimentalmente o grau de segurança para os testes em seres humanos. A primeira preocupação desses testes pré-clínicos é a de mostrar a eficácia do material, pois sem ela não há razão para o estudo. Nesse ponto, os testes em animais de laboratório podem ser considerados fidedignos, desde que não envolvam alterações do comportamento ou atividade fisiológica específica da espécie humana, como seriam as manifestações sensoriais e intelectuais da ação de um fármaco. Comprovada a efetividade, quantificado o efeito principal e eventualmente as ações colaterais, os testes de toxicidade são justificados. Estes têm o objetivo de detectar reações inesperadas produzidas pelo uso continuado do produto, tanto as desencadeadas pela administração acidental de doses excessivas, como as conseqüentes do acúmulo causado por um desbalanceamento entre a administração e a eliminação do fármaco no organismo. Os protocolos para o estudo toxicológico de medicamentos, se realizados por profissionais experientes e com rigor científico, permitem boa avaliação da toxicidade potencial para a espécie humana, permitindo, inclusive, evidenciar quais os seus órgãos de choque principais. Nesse sentido, a maioria das diferenças entre as espécies parece conseqüente de uma farmacocinética distinta e não propriamente de diferenças qualitativas de reatividade, aqui incluídas as interações de membrana e as ativações enzimáticas intracelulares que desencadeiam os efeitos. Por essa razão, os estudos toxicológicos devem ser realizados em espécies com processos metabólicos e farmacocinéticos semelhantes aos da espécie humana, como cães e porcos. Além disso, na interpretação desses resultados torna-se imprescindível o estudo farmacocinético do medicamento, de forma a serem avaliadas, cientificamente, a absorção, a distribuição, a metabolização e a eliminação do fármaco.

Os testes de toxicidade relativos à reprodução, embriofetotoxicidade e carcinogênese, tem variações inter- e intra-específicas importantes e, de modo geral, não guardam relação experimental estrita com a dose. Por isso, não permitem extrapolação para a espécie humana de mesmo nível que os testes farmacodinâmicos. Por segurança, os compostos que apresentam essas atividades tóxicas em animais de laboratório não são utilizados na espécie humana ou têm uso restrito a patologias especiais que não contam com outra alternativa terapêutica. Por outro lado, deve ser salientado que os resultados experimentais negativos, obtidos nesses testes, não excluem a possibilidade de toxicidade humana. Essa é a razão principal pela qual se deve evitar o uso de medicamentos durante a gestação.

3. ESTUDOS PRÉ-CLÍNICOS DE NOVOS MEDICAMENTOS

3.1. Etapa botânica – seleção do material de estudo

A primeira etapa do estudo de um fitoterápico é a seleção do material a ser testado. É essencial garantir a uniformidade e a estabilidade do produto a ser utilizado durante todo o ensaio.

Nesse sentido, a planta medicinal oferece dificuldades já na fase preliminar. Primeiramente, porque é comum a confusão botânica entre espécies afins; em segundo lugar, porque exemplares de uma mesma espécie, colhidos em épocas diferentes, ou de locais diferentes, não têm necessariamente a mesma atividade biológica e; em terceiro lugar, porque é difícil controlar quimicamente um extrato vegetal em virtude do grande número de substâncias normalmente presentes (Evans, 1996).

A planta medicinal deve ser considerada como uma espécie vegetal definida por seu genoma, o qual direciona a formação das características morfológicas externas (fenótipo) e a síntese dos produtos químicos do metabolismo, tanto substâncias do metabolismo primário, como aquelas do metabolismo secundário, pouco ou nada utilizadas pelos vegetais, mas potencialmente ativas nos animais. Ainda que orientada pelas características genéticas da planta, a síntese química dessas substâncias é controlada por fatores do ecossistema – iluminação, calor, constituição do solo, umidade, etc. Não seria esperado, portanto, encontrar a mesma proporção relativa dos constituintes químicos em plantas colhidas de regiões e climas tão diferentes como o da região nordestina, ou da Amazônia, ou o do sul do país. Por essa razão, os efeitos biológicos produzidos por uma mesma espécie vegetal podem ser diferentes. Com isso, é possível entender por que apenas a identificação botânica é insuficiente para garantir a atividade medicinal de uma planta.

3.2. Etapa farmacêutica – formulação, produção e controle de qualidade

Para garantir a uniformidade de um fitoterápico, é necessário que os diferentes produtos fitoterápicos intermediários (tinturas, granulados, extratos secos, etc.) sejam caracterizados através de seus constituintes químicos, ou de sua atividade(s) farmacológica(s). Nenhuma das duas alternativas é rápida ou de fácil execução. A opção mais segura seria identificar e determinar a concentração da(s) substância(s) ativa(s), o que nem sempre é possível frente ao grande número de componentes presentes no extrato. A utilização de substâncias marcadoras, relacionando, por exemplo, a concentração das substâncias mais abundantes, ou a dos grupos químicos com a atividade biológica, é alternativa a ser validada. Portanto, até ser obtido um método de doseamento fidedigno que relacione a composição química com a atividade biológica, apenas o estudo farmacológico poderá garantir a eficácia e a uniformidade de um fitoterápico e, ainda assim, com reservas frente às várias ações colaterais pos-

síveis. Como nenhuma dessas alternativas é de fácil execução, o trabalho inicial de validação deve ser realizado com material obtido de uma só coleta. Assoma-se a isso possíveis interferências dos adjuvantes farmacêuticos empregados ou alterações que possam ser causadas pelos passos tecnológicos de produção.

O controle da estabilidade da forma farmacêutica de um fitoterápico qualquer pressupõe que a matéria-prima em estudo seja uniforme e, na maioria das vezes, exige conhecimento prévio da sua constituição química. Também nesse caso, o controle da atividade farmacológica seria a alternativa disponível para garantir a estabilidade da(s) substância(s) ativa(s) e, conseqüentemente, do fitoterápico (produto final).

4. ETAPA DE ENSAIOS BIOLÓGICOS PRÉ-CLÍNICOS

4.1. Estudos farmacodinâmicos

Os estudos farmacodinâmicos pré-clínicos têm por objetivo comprovar o efeito que motivou o estudo do novo medicamento e o perfil dos seus efeitos colaterais, relacionando esses efeitos às doses e a um possível mecanismo de ação em várias espécies de animais de laboratório.

Os protocolos experimentais *in vivo* devem ser realizados em animais anestesiados ou não, e, sempre que possível, nas mesmas condições do uso popular.

Nesses testes farmacodinâmicos devem ser consideradas, também, as espécies animais mais sensíveis, as vias de administração, a relação dose-efeito, a latência do efeito, a duração e o espectro das ações satélites, se induzidas diretamente, ou se desencadeadas pela estimulação de reflexos. Por fim, deve ser considerada a semelhança da reatividade da espécie estudada com as respostas obtidas na espécie humana. Pelo conhecimento científico acumulado, que não é ocasional, as espécies mais utilizadas nesse estudo são: ratos, camundongos, cobaias, coelhos, cães e, às vezes, macacos e porcos. As experiências *in vivo*, no entanto, dificilmente permitem esclarecer o mecanismo de ação do produto que está sendo testado. Para isso será necessário, em uma etapa subsequente da pesquisa, testar o composto em órgãos ou tecidos isolados, sistemas enzimáticos, preparações subcelulares, culturas de células glandulares, musculares ou tumorais, culturas bacterianas ou virais, etc., sempre na dependência do efeito pesquisado.

As especificidades das ações detectadas em todos esses testes devem ser comprovadas frente a agonistas e antagonistas bem conhecidos, de forma a permitir a interpretação dos resultados com base nos conhecimentos científicos atuais. Dessa análise resultará a formulação de um mecanismo de ação hipotético a ser comprovado com novas experiências. Por sua vez, o conhecimento do mecanismo de ação permitirá a previsão das ações mais

prováveis em outros sistemas vitais, o aparecimento de reações adversas e a forma de tratá-las.

No caso dos fitoterápicos, algumas limitações devem ser consideradas. A primeira delas diz respeito às características do material a ser testado: sua solubilidade, o veículo a ser utilizado, a atividade biológica do veículo escolhido e a via de administração mais adequada entre outras. Geralmente, o fitoterápico é utilizado por via oral ou tópica, às vezes até mesmo aplicado em feridas abertas. Nesse último caso, e também se for escolhida uma via de administração parenteral para estudar o efeito farmacológico, é preciso considerar que, frequentemente, os vegetais possuem constituintes capazes de ativar ou dissolver fosfolípidos da membrana celular, como é o caso das saponinas, ou ainda exercer ações tônicas, perturbando o complexo equilíbrio lipoprotéico da membrana. A estimulação de reflexos, dor, hemólise, lesão endotelial e alterações elétricas dos tecidos excitáveis podem ser decorrentes dessas ações lesivas e não necessariamente refletirem um efeito colateral da(s) substância(s) ativa(s). Essas ações inespecíficas não são geralmente observadas após aplicação tópica, ou administração oral, porque estas vias são naturalmente protegidas por camadas celulares em constante descamação e regeneração. Pela mesma razão, o estudo de extratos vegetais em preparações isoladas é problemático, pois as substâncias estarão em contato direto com a membrana das células efectoras. Nessas condições, a relação concentração-efeito pode tornar-se pouco evidente e nem sempre será possível garantir a especificidade ou explicar os efeitos observados por um mecanismo de ação comum. A purificação e/ou isolamento da(s) fração(ões) ativa(s) e/ou da(s) substância(s) ativa(s) é a única alternativa para essa situação.

4.2. Estudos toxicológicos (Portaria 116/1996 - SVS/MS)

A toxicologia pré-clínica deve indicar qual o grau de confiança a ser depositado em um medicamento a ser administrado à espécie humana. Esses estudos são realizados seguindo-se protocolos bem aceitos internacionalmente, ainda que, dentro do todo aprovado, as exigências legais variem de país a país. A interdependência entre os estudos farmacodinâmicos e os toxicológicos (mesmos princípios científicos e resultados complementares) requer que também esses estudos sejam realizados por profissionais integrados e cooperativos.

Os testes de toxicidade geral devem guardar relação dose-efeito satisfatória e permitir estabelecer relação causa-efeito. A experiência da equipe executora, as condições dos laboratórios, a qualidade dos animais e a definição clara dos objetivos são condições mais importantes do que o cumprimento automático das normas aparentemente rígidas dos protocolos oficiais.

No Brasil, a Resolução 196/1996 do CNS regulamenta a pesquisa em

seres humanos. Essa resolução substituiu a anterior (Resolução 1/1988), excluindo os detalhes das exigências pré-clínicas que lhe davam corpo. Essas exigências internacionais são claras nas normas publicadas pela OMS (1975 e 1993), em publicações didáticas (por ex., Hayes, 1984) e em outras resoluções do MS (Portaria 116/1996 da SVS/MS). De modo geral, essas normas estipulam que os testes de toxicidade para avaliação do risco de um novo medicamento sejam realizados em três espécies de mamíferos, uma delas não-roedora.

Nos testes gerais, as espécies mais utilizadas são camundongos e ratos, machos e fêmeas, de linhagens exogâmicas bem definidas e de características fisiológicas conhecidas. Das espécies não-roedoras, o cão e o porco são preferidos pelo cabedal de conhecimentos acumulados para as duas espécies e, em parte, também pela semelhança com o metabolismo humano. Primatas não-humanos são reservados para estudos complementares especiais. O número de animais em cada teste deve ser suficiente para garantir a análise estatística dos resultados, mas sem exageros que infrinjam os *Princípios Éticos da Experimentação Animal* (COBEA, 1991). Deve ser feita, portanto, uma previsão para que os animais eventualmente mortos durante a realização dos testes não prejudiquem a quantificação e a comparação dos resultados. Em geral, grupos experimentais formados por 10 a 20 ratos ou camundongos, machos e fêmeas, 6 a 8 cães ou porcos, são tratados simultaneamente com o veículo, ou com 3 a 4 doses do produto a ser testado. Um último grupo-controle é deixado sem tratamento (controle negativo). As doses devem ser escolhidas a partir dos testes farmacodinâmicos e espaçadas geometricamente. Nos testes crônicos, deve ser considerada como maior dose aquela que produzir sinais evidentes de toxicidade, mas sem matar mais que 10 % dos animais e a dose mais baixa deve ser próxima da efetiva, mas sem produzir toxicidade. O número de animais aumenta ainda mais quando são consideradas duas vias de administração, uma das quais recomendada para a espécie humana e, a outra, uma via parenteral que sirva à análise eventual das barreiras à absorção.

A duração dos testes toxicológicos é variável e, na prática, serve para diferenciá-los através de denominações diferentes:

No estudo de *toxicidade aguda* os animais são tratados uma única vez com o produto em teste ou, eventualmente, com doses parceladas em período não superior a 24 horas. A avaliação dos resultados imediatamente após esse período, permitirá conhecer a espécie mais sensível e o índice de letalidade; a forma de morte produzida pelo excesso do produto em teste e os órgãos alvo; as alterações comportamentais e os sinais que precedem a morte; as alterações hematológicas, da bioquímica plasmática e urinária. O exame histopatológico indicará as lesões dos órgãos afetados. A manutenção de alguns desses animais tratados agudamente por 7 e 14 dias, permitirá, tam-

bém, verificar os efeitos tardios do tratamento e se a recuperação da ação tóxica ocorre durante esse período de observação dos animais sobreviventes. Esse teste agudo é obrigatório para todos os tipos de materiais em teste, independente do tempo de uso proposto para a espécie humana, pois evidencia o risco de intoxicações agudas, inadvertidas ou não, e a forma de preveni-las. Além disso, os resultados obtidos dão suporte à escolha das doses para os demais testes de toxicidade.

Nos estudos de *toxicidade com doses repetidas*, também chamados estudos *a longo prazo* ou estudos de *toxicidade crônica*, o produto em teste é administrado a intervalos regulares durante períodos variáveis de até 1 a 2 anos. A finalidade desses testes com múltiplas doses seria descobrir ações qualitativa ou quantitativamente diferentes produzidas pelo maior tempo de exposição ao produto, permitindo, também, medir a latência para instalação dos efeitos tóxicos e o acúmulo da droga no organismo. Uma vez comprovada a relação entre doses e efeitos tóxicos, é possível determinar a maior dose que não produz efeito tóxico detectável, parâmetro importante na avaliação da margem de segurança do fármaco e no qual se baseia o cálculo da dose inicial a ser empregada nos testes clínicos. A duração dos testes de toxicidade crônica guarda relação direta com a intenção de uso na espécie humana: se em dose única, ou parcelada em 24 horas, a administração experimental intermitente deverá ser de no mínimo 14 dias; se o tratamento humano é previsto para 7 ou 30 dias (ou mais) de duração, os animais devem ser tratados ininterruptamente por um mínimo de 30 ou 90 dias, respectivamente. De acordo com essa duração, os testes de doses repetidas são subdivididos em testes *subagudos*, ou de *doses repetidas* (menos de 30 dias de tratamento); testes *subcrônicos* (mínimo de 30 dias) ou testes *crônicos* (mínimo de 90 dias). Existe na literatura alguma confusão a respeito dessa nomenclatura: alguns autores preferem chamar de subcrônicos os testes realizados em tempo não superior a 10 % da vida esperada dos animais (por exemplo, 90 dias em ratos) e crônicos, os realizados durante a maior parte ou por toda a vida dos animais.

Alguns estudos de toxicidade a longo prazo têm características especiais e são considerados à parte, como estudos complementares: embriofetotoxicidade, fertilidade e capacidade reprodutiva, carcinogenicidade e mutagenicidade. A extrapolação desses testes para a espécie humana encontra mais restrições que os testes gerais, pois nem sempre se consegue estabelecer uma relação causal, ou relação dose-efeito clara. De modo geral, a positividade de um destes testes, em qualquer espécie, preclui a utilização irrestrita do produto na espécie humana.

4.3. Estudos Farmacocinéticos Pré-Clínicos

Os estudos farmacocinéticos pré-clínicos servem para avaliar o destino do fármaco depois da sua administração ao animal de experimentação. A velocidade e a intensidade de absorção, a distribuição no organismo, a afinidade pelos sítios de ligação, as formas de metabolização, a velocidade e os órgãos responsáveis por sua excreção do organismo são todos parâmetros importantes para os estudos de eficácia e toxicidade. O seu conhecimento permite antecipar os efeitos tóxicos com administração de doses repetidas e as interações prováveis com outros medicamentos, além de permitir o cálculo da frequência de administração necessária para manter estável o seu nível plasmático. Essas informações, além de facilitarem a extrapolação à espécie humana, permitem estabelecer, com mais fundamento, as bases iniciais da terapêutica humana. Evidentemente, a extrapolação desses estudos será tanto mais fidedigna quanto mais próxima do homem estiver a espécie animal em estudo, mas não elimina a necessidade desses estudos serem repetidos, oportunamente, na espécie humana.

Em conclusão, os estudos pré-clínicos devem permitir responder às seguintes questões citadas no quadro 1.

-
- 1) As ações são:
 - definidas e desejáveis?
 - constantes e reprodutíveis?
 - as mesmas em diferentes espécies?
 - 2) A relação dose-efeito foi determinada?
 - 3) O mecanismo responsável pelas ações é desejável?
 - ou,
 - 4) As ações são resultantes de interações múltiplas no animal e uma delas é indesejável?
 - 5) Qual o índice terapêutico?
 - 6) As ações colaterais do fármaco são importantes e severas?
 - 7) Qual a margem de segurança do novo fármaco?
-

Quadro 1. Questões para os testes pré-clínicos seg. Van Winkle et al., 1944

4.4. Etapa Clínica ou Etapa de Ensaios na Espécie Humana

Essa etapa tem a finalidade de comprovar o potencial terapêutico do medicamento na espécie humana. Os estudos propostos devem ser justificados por evidências de uma atividade farmacológica de interesse terapêutico e cabalmente embasados nas experiências farmacodinâmicas e toxicológicas pré-clínicas.

A legislação brasileira normatizando a pesquisa em humanos, atualizada pela Resolução 196/1996 do Conselho Nacional de Saúde (Brasil, 1996), considera que os estudos clínicos de um novo medicamento estendem-se desde sua

primeira administração ao ser humano até a obtenção de dados sobre sua eficácia e segurança terapêutica em grandes grupos populacionais. Esses estudos devem ser realizados em 4 fases sucessivas:

Fase I - Com um número reduzido de voluntários sadios para a obtenção de dados relativos à farmacodinâmica (efeitos em função da dose), farmacocinética (vias de absorção, vida média, metabolização e excreção), alterações no local da aplicação, biodisponibilidade (na administração oral) e posologia. Nessa etapa é possível, ainda, confirmar a toxicidade prevista nos testes pré-clínicos, relacionada – ou não – ao efeito principal desejado. Esses estudos de Fase I são, em geral, realizados em Clínicas Universitárias e/ou Centros Médicos credenciados pelo Conselho Nacional de Saúde, envolvendo uma equipe treinada de médicos, farmacologistas, enfermeiros, farmacêuticos, estatísticos e, eventualmente, outros profissionais que o estudo exija.

Fase II - Com um número reduzido de pacientes (10 a 15), em tratamento de curta duração, para testar a efetividade do medicamento na patologia para a qual ele é proposto. Esses estudos permitem avaliar também a efetividade e a toxicidade do novo medicamento com relação às alterações introduzidas pela doença, ou eventualmente, originadas da interação com outros medicamentos de uso simultâneo.

Fase III - Com um número maior de pacientes e tratamentos mais prolongados, visando à comprovação da segurança e da efetividade do tratamento, à determinação da menor dose eficaz e à utilidade do medicamento comparativamente a um placebo e a uma substância de referência com atividade semelhante. As conclusões devem ser baseadas em comparações estatísticas.

Fase IV - Com um grande número de pacientes para comprovação clínica da indicação terapêutica do novo fármaco e das doses definidas anteriormente. Esses estudos devem ser realizados simultaneamente com um grupo placebo e um grupo tratado com substância de referência (controle positivo). Pelo número de pacientes envolvidos, sua execução é cara e difícil. Mais frequentemente são estudos multicêntricos, ambulatoriais, garantindo semelhança com as condições reais pretendidas como definitivas na indicação terapêutica. Os ensaios devem ser realizados por especialistas médicos, em estudos cruzados e duplo-cegos, comparando o medicamento em teste, o placebo e o controle positivo. Na dependência do número de pacientes arrolados, esses testes permitem a identificação de reações idiossincrásicas de baixa ocorrência. Essa fase da normatização, de acordo com as normas brasileiras, corresponde à fase III dos protocolos americanos. A fase IV na metodologia norte-americana é uma fase de estudo pós-comercialização do produto, às vezes realizada inicialmente em centros selecionados e visa a controlar a segurança terapêutica em parcela representativa da população. No Brasil, programas semelhantes de vigilância sanitária continuada estão sendo implantados.

Em suma, os testes clínicos devem permitir respostas favoráveis às seguintes perguntas:

- 1) Os princípios éticos e os direitos dos pacientes foram respeitados? O protocolo experimental foi submetido e aprovado por uma Comissão de Ética independente? O consentimento, após informação dos pacientes, foi obtido por escrito? A liberdade de participar, ou não participar, foi garantida durante todo o ensaio?
- 2) Os objetivos definidos no protocolo inicial do estudo foram alcançados?
- 3) A seleção, o número e a amostragem dos pacientes estudados permitem conclusões generalizadas ou elas devem ser particularizadas?
- 4) Os métodos de análise foram apropriados para obtenção dos resultados? Os dados foram obtidos com técnicas de duplo-cego em ensaios cruzados?
- 5) A descrição dos dados foi abrangente? Qual o nível de aderência ao tratamento? Qual o nível de desistência durante o estudo? Os resultados foram comparados estatisticamente a um placebo e a um padrão positivo?
- 6) A conclusão é compatível com os resultados?
- 7) O novo tratamento é vantajoso comparativamente a outros existentes?

5. POR QUE VALIDAR FITOTERÁPICOS?

Hoje, como sempre, as plantas medicinais constituem fonte imediata e viável de medicamentos para enfermidades com poucos recursos terapêuticos.

É notório que no Brasil e outros países em desenvolvimento, as plantas medicinais e os fitoterápicos delas obtidos são muito utilizados no tratamento das doenças prevalentes. No entanto, poucos desses produtos foram estudados de acordo com protocolos científicos modernos. A maioria não pode, portanto, ser aceita como medicamento ético de prescrição livre porque, em geral, são produtos sem eficácia comprovada na espécie humana, sem estudos da eventual toxicidade e sem controle de qualidade apropriado. A validação científica desses produtos é essencial ao seu uso como medicamentos alternativos. Os protocolos para a caracterização de medicamentos são bem definidos internacionalmente e, de modo geral, foram incorporados à Legislação. No Brasil a Resolução 196/1996 do Conselho Nacional de Saúde e a Portaria 116/1996 da Secretaria da Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde regulamentam esses estudos, mas não os detalham. Para esse fim, outras publicações devem ser consultadas, particularmente as da Organização Mundial da Saúde que tratam da normatização de condutas éticas e científicas na pesquisa biológica em seres humanos visando, futuramente, à harmonização internacional e à livre circulação de produtos farmacêuticos. Se estes propósitos são válidos também para plantas medicinais e fitoterápicos, suas ações deverão ser comprovadas e as toxicidades avaliadas cientificamente na espécie humana, como qualquer outro medicamento.

Nos países em desenvolvimento, além da descoberta de compostos inovadores, o estudo científico de fitoterápicos tem outros objetivos sociais relevantes:

A *curto prazo*, a aceitação popular dos medicamentos naturais permite antever que a aderência terapêutica e a efetividade dos tratamentos de difícil aceitação deverão aumentar com a introdução de fitoterápicos cientificamente controlados, mesmo naquelas enfermidades que contam com recursos apropriados.

A *médio/longo prazo*, a exploração racional da biodiversidade e dos recursos terapêuticos naturais, por empresas farmacêuticas regionais, trará o fortalecimento do mercado e da infra-estrutura técnico-científica no setor de medicamentos. Antevê-se com isso, a formação e a participação empresarial da longa cadeia de especialistas necessários à consolidação da autonomia científica na área da saúde e à definição de política nacional adequada ao atendimento primário à saúde.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBOT, P.J. Comfrey: assessing the low-cost health risk. *Med. J. Aust.*, v. 149, p. 678-682, 1988.
- BRASIL, Ministério da Saúde, Conselho Nacional de Saúde. Resolução nº 196. *Diário Oficial da União*, v. 201, seção I, p. 21082-21085, 10.10.1996.
- BRASIL, Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância Sanitária. Portaria nº 19 de 30.1.92. *Diário Oficial da União*, v. 197, seção I, 3.2.1992.
- BRASIL, Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância Sanitária. Portaria nº 199 de 3.2.92. *Diário Oficial da União*, v. 197, seção I, p. 1324, 1992.
- BRASIL, Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância Sanitária. Portaria nº 6 de 31.1.95. *Diário Oficial da União*, v. 200, seção I, p. 1523-1524, 6.2.1995.
- BRASIL, Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância Sanitária. Portaria nº 116 de 12.8.96. *Diário Oficial da União*, v. 201, seção I, p. 15198-15199, 12.8.1996.
- BRASIL, Ministério da Saúde, Conselho Nacional de Saúde. Resolução nº 196 de 12.8.96. *Diário Oficial da União*, v. 201, seção I, p. 21082-21085, 10.10.1996.
- BRASIL, Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância Sanitária. Portaria nº 1029 de 21.12.98. *Diário Oficial da União*, 23.12.1998.
- BRASIL, Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) nº 17 de 24.2.2000. *Diário Oficial da União*, 24.2.2000.
- COBEA (Colégio Brasileiro de Experimentação Animal). *Os princípios éticos da experimentação animal*. São Paulo, 1991.
- EMEA – The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products. *Position paper on the risks associated with the use of herbal products containing Aristolochia species*. 2000. EMEA/HMPWP/23/00.
- EVANS, W.C. The plant and animal kingdoms as sources of drugs. In: *Trease and Evans' pharmacognosy*. London: W. B. Saunders., 1996. p. 15-17.
- FOLHA de São Paulo. *A guerra dos remédios*. p. 2-1, 17.2.1997.
- GARCIA-GONZALES, M. *Legislación Iberoamericana sobre fitofarmacos y productos naturales*. In: Caceres, A. (ed.), San Jose, C.R.: Univ. de Costa Rica, CYTED, 2000. 396p.

- HAYES, A.W. *Principles and methods of toxicology*. New York: Raven, 1984.
- HIRONO, I.; MORI, H.; HAGA, M. Carcinogenic activity of *Symphytum officinale*. *J. Natl. Cancer Inst.*, v. 61, p. 865-869, 1978.
- INSTITUTE of Medical Statistics (IMS) *Mercado farmacêutico brasileiro, vendas*, 1992.
- LENZ, W. A short history of thalidomide embryopathy. *Theratol.*, v. 38, p. 203-215, 1988.
- ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD. Programa de Medicina Tradicional. *Pautas para la evaluación de medicamentos herbários*. Ginebra, 1991.
- ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD. *Pautas para la evaluación de los medicamentos destinados al hombre: Informe de un Grupo Científico de la OMS. Série de Informes Técnicos*, n. 563, Ginebra, 1975.
- USDC, 1999 – Department of Commerce. <http://STRATEGIS.ic.gc.ca/SSG/DD73073.html>
- VAN WINKLE JR., W.; HERWICK, R.P.; CALVERY, H.O.; SMITH, A. Laboratory and clinical appraisal of new drugs. *J. Am. Med. Assoc.*, v. 126, p. 958-961, 1944.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION, Division of Drug Management & Policies. *Guidelines for Good Clinical Practice (GCP) for Trials on Pharmaceutical Products*. Geneva, 1992.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION, Council for International Organizations of Medical Sciences (CIOMS). *International Ethical Guidelines for Biomedical Research involving Human Subjects*. Geneva, 1993.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION, Regional Office for the Western Pacific. *Research Guidelines for Evaluating the Safety and Efficacy of Herbal Medicines*. Manila, 1993.
- YEONG, M.L.; CLARK, S.P.; WARING, J.M.; WILSON, R.D.; WAKEFIELD, S.J. The effects of comfrey derived pyrrolizidine alkaloids on rat liver. *Pathology*, v. 23, p. 35-38, 1991.
- YEONG, M.L.; WAKEFIELD, S.J.; FORD, H.C. Hepatocyte membrane injury and bleb formation following low dose comfrey toxicity in rats. *Ind. J. Exp. Pathol.*, v. 74, p. 211-217, 1993.

7. SUGESTÕES PARA LEITURA

- GOLDIM, J.R. *Pesquisa em saúde: leis, normas e diretrizes*. 3.ed. Porto Alegre: Hospital de Clínicas de Porto Alegre, 1997.
- MEDICAMENTO: A Indústria Farmacêutica e as Patentes. *Ciência Hoje*, v. 15, n. 89, 1993.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION, Regional Office for the Western Pacific. *Research Guidelines for Evaluating the Safety and Efficacy of Herbal Medicines*. Manila, 1993.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. *Regulatory Situation of Herbal Medicines. A Worldwide Review*, 1998. WHO/TRM/98.1

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE MATÉRIAS-PRIMAS VEGETAIS

AUTOR

Mareni Rocha Farias

SUMÁRIO DO CAPÍTULO

1. Introdução
2. Estabelecimento dos parâmetros da qualidade
3. Amostragem
4. Ensaio de qualidade de matérias-primas vegetais
5. Documentação e protocolos de análise
6. Referências bibliográficas
7. Sugestões para leitura

1. INTRODUÇÃO

Entende-se por qualidade o conjunto de critérios que caracterizam a matéria-prima para o uso ao qual se destina. A partir do estabelecimento dos parâmetros de qualidade para a matéria-prima, e considerando-se um planejamento adequado e um controle do processo de produção do medicamento, a qualidade do produto final estará, em grande parte, assegurada (Ihrig e Blume, 1992; Gaedcke e Steinhoff, 2000). Portanto, a qualidade da matéria-prima vegetal é a determinante inicial da qualidade do fitoterápico.

Contudo, a qualidade das matérias-primas vegetais não garante, por si, a eficácia, a segurança e a qualidade do produto final. A eficácia é dada pela comprovação, através de ensaios farmacológicos pré-clínicos e clínicos, dos efeitos biológicos preconizados para esses recursos terapêuticos. A segurança é determinada pelos ensaios que comprovam a ausência de efeitos tóxicos, bem como pela inexistência de contaminantes nocivos à saúde, como, por exemplo, metais pesados, agrotóxicos, microorganismos e seus produtos metabólicos, produtos de degradação, entre outros. A segurança e a eficácia de um fitoterápico devem ser definidas para cada produto, pois dependem de diversos fatores, como a metodologia de obtenção dos extratos, a formulação e a forma farmacêutica do produto final, entre outros. Para garantir a uniformidade dos diferentes lotes desses medicamentos e, conseqüentemente,

sua reprodutibilidade em termos de eficácia, segurança e qualidade farmacêutica faz-se necessário um controle rigoroso de todas as etapas do processo. Assim, os parâmetros de qualidade da matéria-prima vegetal devem ser precisamente pré-definidos e os procedimentos de preparação dos extratos devem ser padronizados, obtendo-se assim, os chamados produtos padronizados.

A qualidade adequada das matérias-primas deve ser realizada de acordo com bases científicas e técnicas. Nos procedimentos rotineiros de análise da qualidade, geralmente é preconizado o emprego de metodologias químicas, físicas ou físico-químicas e biológicas, sendo necessária a correlação entre os parâmetros analisados e a finalidade a que se destina.

Estabelecidos esses critérios, o emprego de protocolos de análise, permitindo o acompanhamento e a documentação de todos os procedimentos, é fundamental para o asseguramento e o gerenciamento da qualidade.

2. ESTABELECIMENTO DOS PARÂMETROS DA QUALIDADE

Os parâmetros da qualidade para fins farmacêuticos são, em princípio, estabelecidos nas Farmacopéias e Códigos oficiais. No caso das matérias-primas vegetais oriundas de plantas clássicas, ou seja, aquelas estudadas tanto do ponto de vista químico, quanto farmacológico, existem monografias definindo critérios de identidade, de pureza e de teor. Dependendo da origem do vegetal, podem ser utilizadas, além da Farmacopéia Brasileira, farmacopéias de diferentes países como, por exemplo, a Farmacopéia Alemã, a Farmacopéia Francesa, Farmacopéia Britânica, Farmacopéia Européia, Farmacopéia Helvética, Farmacopéia Americana (Portaria 116/SVS de 17.11.95, publicada no D.O.U. de 27.11.95 e reeditada no D.O.U. de 8.4.96.), entre outras, além de monografias complementares, como as elaboradas pela Organização Mundial de Saúde, pela Comissão E do Ministério da Saúde alemão ou pela União Européia.

No caso das plantas medicinais brasileiras, a grande maioria delas encontra-se descrita apenas na primeira edição da Farmacopéia Brasileira, editada em 1929, parte das mesmas suprimidas na segunda edição ou destinadas ao Formulário Nacional. No decorrer dos anos, os avanços científicos e tecnológicos tornaram muitas destas monografias obsoletas para fins analíticos. A quarta edição da Farmacopéia Brasileira (1997, 2000, 2002) apresenta monografias atualizadas de 23 plantas, contudo, na sua grande maioria são espécies importadas (tabela 1).

Sendo assim, para as espécies que não constam em uma Farmacopéia atualizada, é essencial que a empresa que a utiliza como matéria-prima elabore uma monografia estabelecendo seus padrões de qualidade.

Alguns parâmetros essenciais para a qualidade da matéria-prima vegetal podem variar dependendo da procedência do material. As variações, principalmente na composição química e, em alguns casos, na pureza e mesmo nas características fenotípicas, ressaltam a importância dos estudos de caracterização

TABELA I
Monografias de plantas constantes na Farmacopéia Brasileira 4.ed. (1997, 2000, 2002)

	MONOGRAFIA	ESPECIES BOTÂNICAS	FAMÍLIA	FASCÍCULO
1.	Beladona <i>Belladonnae folium</i>	<i>Atropa belladonna</i> L.	Solanaceae	I
2.	Boldo <i>Boldo folium</i>	<i>Peumus boldus</i> Molina	Monimiaceae	I
3.	Camomila <i>Matricariae flos</i>	<i>Matricaria recutita</i> L.	Asteraceae	I
4.	Cáscara-sagrada <i>Rhamni purshiani cortex</i>	<i>Rhamnus purshiana</i> DC.	Rhamnaceae	I
5.	Eucalipto <i>Eucalyptus folia</i>	<i>Eucalyptus globulus</i> Labill.	Myrtaceae	I
6.	Hamamelis <i>Hamamelidis folium</i>	<i>Hamamelis virginiana</i> L.	Hamamelidaceae	I
7.	Ipecacuanha <i>Ipecacuanha radix</i>	<i>Cephaelis ipecacuanha</i> (Brot.) A. Rich <i>Cephaelis acuminata</i> Karsten	Rubiaceae	I
8.	Jaborandi <i>Jaborandi folia</i>	<i>Pilocarpus microphyllus</i> Stapf ex Wardle-Worth	Rutaceae	I
9.	Sene <i>Sennae folium et fructus</i>	<i>Senna alexandrina</i> Mill.	Leguminosae	I
10.	Valeriana <i>Valerianae radix</i>	<i>Valeriana officinalis</i> L.	Valerianaceae	I
11.	Alcaçuz <i>Liquiritiae radix</i>	<i>Glycyrrhiza glabra</i> L.	Fabaceae	II
12.	Anis-doce <i>Anisi fructus</i>	<i>Pimpinella anisum</i> L.	Apiaceae	II
13.	Badiana <i>Fructus anisi stellati</i>	<i>Illicium verum</i> Hook.f.	Magnoliaceae	II
14.	Canela-do-ceilão <i>Cinnamomi cortex</i>	<i>Cinnamomum verum</i> J. S. Presl. (= <i>Cinnamomum zeylanicum</i> Breyn.)	Lauraceae	II
15.	Centella <i>Centellae folium</i>	<i>Centella asiatica</i> (L.) Urb. (= <i>Hydrocotyle asiatica</i> L.)	Apiaceae	II
16.	Funcho <i>Fructus foeniculi</i>	<i>Foeniculum vulgare</i> Mill.	Apiaceae	II
17.	Genciana <i>Rhizoma et radix gentianae</i>	<i>Gentiana lutea</i> L.	Gentianaceae	II
18.	Hidráste <i>Radix hydrastis</i>	<i>Hydrastis canadensis</i> L.	Ranunculaceae	II
19.	Malva <i>Folium malvae</i>	<i>Malva sylvestris</i> L.	Malvaceae	II
20.	Quina-vermelha <i>Cinchonae cortex</i>	<i>Cinchona pubescens</i> Vahl	Rubiaceae	II
21.	Calêndula <i>Calendulae flos</i>	<i>Calendula officinalis</i> L.	Asteraceae	III
22.	Marcela <i>Achyrocline flos</i>	<i>Achyrocline satureioides</i> (Lam.) DC.	Asteraceae	III
23.	Noz-de-cola <i>Semen colae</i>	<i>Cola nitida</i> (Vent.) Schott et Endl.	Sterculiaceae	III

farmacognóstica, correlacionados com a atividade farmacológica. Sendo assim, a origem geográfica exata e as condições de cultivo, estágio de desenvolvimento, colheita, secagem e armazenamento, bem como de tratamentos com agrotóxicos, descontaminantes e conservantes devem ser conhecidos (British, 1996). Para a camomila (*Matricaria recutita* L. = *Chamomilla recutita* (L.) Rauschert),

por exemplo, a composição do óleo volátil pode variar com a procedência do material, sendo descritas quatro raças químicas, de acordo com o tipo de derivado do bisabolol predominante. Além disso, a procedência das flores de camomila determina também alguns dos contaminantes a serem investigados. No Marrocos, a espécie *Ormenis multicaulis* Braun-Blanq. et Maire, família Asteraceae, é também conhecida como camomila, podendo ser caracterizada pela presença de santolinol. Nos países de língua anglo-saxônica, espécies do gênero *Anthemis* são conhecidas como camomila (camomila-romana), nas quais foi detectada a presença da lactona sesquiterpênica antecotulídeo, com elevado potencial alergênico (Carle, 1996; Schilcher, 1987).

O estabelecimento de parâmetros quantitativos, no caso de matérias-primas vegetais, é significativamente mais complexo do que para matérias-primas sintéticas. Normalmente, é determinado o teor de um conjunto de substâncias, preferentemente correlacionadas com a finalidade de uso. Para as plantas é estabelecido um teor mínimo, baseado em análises sistemáticas, considerando o desenvolvimento do vegetal, bem como locais de coleta. Por exemplo, estudos realizados com dois cultivares de tanchagem (*Plantago lanceolata* L.) demonstraram a variação sazonal na concentração de catalpol, aucubina e acteosídeo nas folhas, indicando meados do outono como o melhor período para a coleta da planta (Tamura e Nishibe, 2002). A correlação entre o teor de substâncias ativas e a atividade farmacológica deve levar em consideração a finalidade que será dada ao material, ou seja, metodologia de extração e conseqüente forma farmacêutica. Nos ensaios quantitativos devem ser consideradas as características químicas e físico-químicas dos constituintes, evitando-se erros analíticos ou problemas de abrangência analítica ou limites de aceitabilidade. Por exemplo, na determinação do teor de aliina em bulbos de *Allium sativum* L., por cromatografia gasosa, pode ocorrer degradação térmica da substância, sendo, nesse caso, recomendada a análise por cromatografia líquida de alta eficiência (Müller e Runke, 1993).

3. AMOSTRAGEM

A análise da qualidade de um lote de matéria-prima é realizada por amostragem, sendo a tomada da amostra um fator determinante para a confiabilidade do resultado. A amostra deve ser, por definição, representativa do todo. Sendo assim, a quantidade e a forma de obtenção da amostra dependem da quantidade total do material a ser analisado. As características específicas de materiais vegetais, especialmente no que se refere à homogeneidade, requerem cuidados próprios na tomada da amostra. A OMS (WHO, 1998) recomenda que todas as embalagens contendo o material devem ser inspecionadas individualmente, avaliando-se as condições do próprio recipiente e a uniformidade de conteúdo, verificando dados constante no recipiente ou rótulo. Deve-se atentar para quaisquer alterações que possam afetar a qualidade ou a estabilidade do material. Embalagens suspeitas devem ser amostradas separadamente.

Após a inspeção inicial, deve-se estabelecer quantas e quais embalagens serão amostradas para a obtenção da amostra para análise ou amostra final. As Farmacopéias e a OMS estabelecem algumas regras gerais de amostragem considerando, principalmente, grandes quantidades de matéria-prima (tabela 2). No caso específico de pequenas quantidades, como, por exemplo, nas farmácias magistrais, deve prevalecer o bom senso, empregando-se uma quantidade de material que permita a realização de todos os ensaios estabelecidos, garantido sua representatividade do todo.

TABELA 2
Número de embalagens a serem amostradas

F. Bras. IV		DAB, 1991		WHO, 1998	
Número total de embalagens	Número de embalagens a serem amostradas	Número total de embalagens	Número de embalagens a serem amostradas	Número total de embalagens	Número de embalagens a serem amostradas
1 a 10	1 a 3	1 a 3	todas	1 a 5	todas
10 a 25	3 a 5	mais de 3	empregar a fórmula $\sqrt{n} + 1$ *	6 a 60	5
25 a 50	4 a 6			mais de 50	10% do total *
50 a 75	6 a 8				
75 a 100	8 a 10				
mais de 100	5 % do total (mínimo = 10)				

* para números não-inteiros deve ser considerado o valor inteiro imediatamente superior.

De cada embalagem selecionada, devem ser retiradas 3 amostras iguais, cada uma correspondendo às regiões superior, intermediária e inferior do recipiente. Para materiais pulverizados, pequenos frutos ou sementes deve ser empregado um aparelho de amostragem, constituído de um tubo perfurante provido de dispositivo de fechamento na base. Para drogas constituídas por fragmentos com dimensões superiores a 1 cm, a amostragem pode ser manual. Caso o material esteja acondicionado em sacos, as amostras das regiões intermediária e inferior deverão ser obtidas através de cortes na embalagem. Se a droga estiver acondicionada em caixas ou tonéis, retira-se a amostra superior, remove-se cerca de metade do conteúdo da embalagem, retira-se a amostra intermediária e, posteriormente, remove-se o suficiente do material para retirar a amostra da região inferior (WHO, 1998). Deve-se proceder com cuidado para manter as características de cada uma das amostras. A quantidade de material a ser retirado depende do grau de divisão do material e da quantidade disponível (tabela 3). Para quantidades de material entre 1 e 5 kg, as quantidades retiradas devem ser suficientes para a realização de todos os ensaios. Para quantidades superiores a 5 kg, são tomadas amostras de, no mínimo, 250 g cada (Deutsches, 1991; WHO, 1998). Quantidades superiores a 100 kg e em fragmentos maiores que 1 cm, a quantidade retirada deve ser de 500 g (Farmacopéia, 1988, Deutsches, 1991).

TABELA 3

Amostragem considerando o grau de divisão e a quantidade do material, segundo a F. Bras. IV

Grau de divisão da droga	Quantidade disponível	Tipo de amostragem	Quantidade da amostra
< 1 cm	Até 100 kg	- de cima para baixo - de baixo para cima - lateralmente	250 g
	> 100 kg	- de cima para baixo - de baixo para cima - lateralmente - quarteamento	250 g
> 1 cm	Até 100 kg	- de cima para baixo - de baixo para cima - lateralmente	500 g
	> 100 kg	- de cima para baixo - de baixo para cima - lateralmente - quarteamento	500 g

As 3 amostras retiradas de cada uma das embalagens amostradas são misturadas e dessa mistura obtém-se, por quarteamento, a **amostra para análise**. O quarteamento consiste na distribuição uniforme da droga sobre uma área quadrada, dividindo-se a área em quatro partes iguais. As porções contidas nos dois quadrados opostos diagonalmente são retiradas, misturando-se novamente as restantes, repetindo a distribuição e a divisão, se necessário (figura 1).

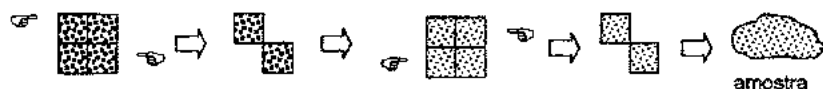


Figura 1. Representação esquemática do procedimento de quarteamento

Para quantidades de droga menores do que 10 kg, é permissível amostrar quantidades inferiores, devendo a amostra ser constituída de, no mínimo, 125 g (Farmacopéia, 1988).

A Farmacopéia Alemã estabelece que devem ser retiradas 3 amostras iguais, cada uma correspondendo às regiões superior, intermediária e inferior do recipiente. As amostras são misturadas e dessa mistura obtém-se a amostra para análise. Para quantidades de material entre 1 e 5 kg, as quantidades retiradas devem ser suficientes para a realização de todos os ensaios. Para quantidades superiores a 5 kg, são tomadas amostras de, no mínimo, 250 g cada (Deutsches, 1991).

As análises realizadas com a amostra têm por objetivo definir se a matéria-prima poderá ser empregada na elaboração de medicamentos. Portanto, durante todo o procedimento de análise, a matéria-prima deverá permanecer armazenada separadamente, em quarentena, aguardando o laudo técnico e, conseqüentemente, a sua liberação. Segundo as normas de boas práticas de fabricação (Brasil, 1994, 2001), deve-se guardar como contraprova uma quantidade da amostra utilizada na análise, caso seja necessário repetir os ensaios. Todo o procedimento de amostragem deverá ser devidamente documentado, colocando-se etiquetas apropriadas tanto no material em quarentena, quanto nas amostras enviadas ao laboratório.

4. ENSAIOS DE QUALIDADE DE MATÉRIAS-PRIMAS VEGETAIS

Os ensaios de qualidade de matérias-primas vegetais preconizados nas Farmacopéias e em diferentes literaturas da área objetivam a verificação da identidade botânica do material, da pureza do material e a caracterização dos constituintes químicos da espécie, especialmente daqueles envolvidos na atividade terapêutica, bem como o doseamento destes. Todo o procedimento analítico deve ser validado e nos ensaios quantitativos, variações nos resultados deverão ser consideradas estatisticamente. Nas análises de matérias-primas é preconizada a realização destes ensaios em triplicata, calculando-se a média e o coeficiente de variação.

4.1. Análise sensorial ou organoléptica

A análise sensorial, ou seja, a análise do aspecto visual, do sabor, do odor e da percepção ao tato de matérias-primas vegetais é o meio mais simples e rápido de verificar alguns parâmetros de qualidade, principalmente de identidade e pureza. Além disso, um produto que se diferencia do usual será rejeitado pelo consumidor, tendo sua credibilidade comprometida.

Do ponto de vista da identidade, se nessa análise uma amostra apresentar coloração, consistência, sabor ou odor significativamente diferentes dos estabelecidos, considera-se que ela não preenche os requisitos necessários, sendo rejeitada. No entanto, nem sempre essas são características para uma única espécie. Para a análise de sabor e odor, os profissionais devem receber treinamento específico, evitando-se as variabilidades sensoriais individuais (WHO, 1992; 1998). Para esse tipo de análise, a comparação com amostras autênticas é essencial, sendo imprescindível a manutenção de uma coleção de farmacógenos validados no laboratório.

Quanto à pureza, muitas vezes a simples análise organoléptica pode permitir a verificação da contaminação por fungos ou o odor de material em decomposição. A percepção visual ou ao tato, principalmente de farmacógenos

lenhosos, pode possibilitar a constatação de que o material sofreu ataque de insetos como os cupins, por exemplo. Além disso, a comparação da intensidade do odor ou coloração pode ser indicativa de condições inadequadas de armazenamento ou de prazo de validade ultrapassado. Por exemplo, folhas de hortelã (*Mentha* sp.) que apresentam fraco aroma de mentol ou flores de marcela (*Achyrocline satureioides* (Lam.) DC.) de coloração marrom-avermelhada não correspondem às características aceitáveis dos farmacógenos.

4.2. Verificação da autenticidade

A autenticidade de uma amostra vegetal é dada pelos parâmetros de identidade botânica através de ensaios macro e microscópicos, bem como pela presença dos constituintes químicos ativos e/ou característicos da espécie. As características organolépticas, em muitos casos, também são auxiliares na identificação, bem como nos ensaios de pureza.

A identificação botânica de um vegetal exige a análise das diferentes partes da planta, como, por exemplo, flores, frutos, folhas e caules, estando a descrição completa documentada em literaturas especializadas da área de botânica. Para as plantas medicinais, como normalmente trabalha-se somente com os farmacógenos, faz-se necessária a utilização de literaturas mais específicas, em que são encontradas as descrições das partes das plantas empregadas farmacêuticamente. No caso de plantas íntegras ou grosseiramente rasuradas, essa análise é realizada através da avaliação do conjunto das características morfológicas. A análise de amostras pulverizadas é mais complexa, exigindo o reconhecimento de estruturas microscópicas características e diferenciais, complementada com as análises químicas. Sendo assim, a aquisição de matérias-primas íntegras deve ser preferencial.

4.2.1. Caracteres botânicos macroscópicos

Esses ensaios correspondem à análise a olho nu ou com auxílio de lupa. Nas análises de rotina são necessários conhecimentos básicos de botânica, disponibilidade de literatura especializada e, preferencialmente, de material para comparação, como amostra autêntica, desenhos ou fotos. Para essa finalidade, as referências Rohdewald et al., 1986; Eschrich, 1988; Oliveira et al., 1991; Bisset, 1994; Evans, 1996, entre outras, podem ser empregadas. No segundo e terceiro fascículos da Parte II da Farmacopéia Brasileira IV algumas descrições botânicas das monografias são acompanhadas de ilustrações, o que é muito útil para a análise.

Os estudos para o estabelecimento dos parâmetros de identidade botânica devem ser realizados em colaboração com os profissionais botânicos. Esses critérios devem basear-se na descrição dos elementos característicos da espécie, sendo, geralmente, desnecessária a descrição botânica completa.

Nesses casos, é essencial o estabelecimento de estruturas que permitam a diferenciação entre a espécie medicinal ou farmacopéica e espécies frequentemente encontradas como adulterantes. Para exemplificar, pode-se citar a espécie *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC., empregada no sul do Brasil como marcela ou macela. Na tabela 4 são apresentadas as características botânicas principais, segundo Sonaglio (1987), complementadas por Knorst (1991), que permitem a sua diferenciação, especialmente de *A. vauthieriana* DC. (sinonímia = *A. alata* (Kunth) DC.), um dos adulterantes mais comuns.

4.2.2. Caracteres botânicos microscópicos

Essa análise é realizada com auxílio do microscópio, exigindo, inicialmente, a preparação adequada do material. A preparação das lâminas pode ser realizada a partir de drogas inteiras ou de material fragmentado, fazendo-se cortes histológicos. Se isso não for possível, pode-se analisar o próprio pó da droga.

Para a preparação dos cortes, no caso de material dessecado, o farmacógeno é amolecido em água quente ou fervente e fixado, posteriormente, em misturas de etanol-água ou etanol-glicerol, em concentrações apropriadas definidas para o farmacógeno. Com o objetivo de dissolver grãos de amido e aleurona, facilitando a visualização das estruturas celulares, é recomendado adicionar ao material colocado sobre lâmina, algumas gotas de solução de hidrato de cloral, colocar a lâmina e aquecer a preparação cuidadosamente até iniciar a ebulição. A rápida secagem dos cortes histológicos pode ser evitada adicionando-se uma gota de glicerol às preparações após o aquecimento e resfriamento.

Além disso, muitas vezes também é preconizada a realização de reações

TABELA 4

Características botânicas essenciais para a identificação de amostras de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC., segundo Sonaglio (1987), complementadas por Knorst (1991)

Parte da planta	Descrição
Caule	não alado, cilíndrico, pêlos alvo-tomentosos
Folhas	sésseis ou curtíssimo pecioladas, limbo linear a linear-lanceolado, pêlos alvo-tomentosos
Capítulos florais	diâmetro de cerca de 1 mm, reunidos em densos glomérulos paniculados
Brácteas	3 ou 4 séries, totalizando 9 brácteas amarelas, consistência escariosa, forma lanceolada e ápice agudo
Florês	femininas: filiformes radiais, entre 6 e 3 hermafroditas: tubulosas, centrais, cerca de 3
Papus	branco, unisseriado, cerca de 4 mm de comprimento
Aquênio	escuro, glabro, elipsoidal

histoquímicas, as quais permitem a caracterização de certos grupos de constituintes químicos auxiliares na identificação das estruturas microscópicas. Para a realização dessas reações, não é recomendado o uso de material preparado em água fervente. Na tabela 5 são apresentadas algumas reações preconizadas pelas Farmacopéias.

Em certos casos, a análise microscópica permite, além da verificação da autenticidade da amostra, outras inferências a respeito da qualidade do material. Na análise microscópica de flores de camomila, por exemplo, a caracte-

TABELA 5
Exemplos de reações histoquímicas preconizadas pelas Farmacopéias

Constituintes analisados	Reações químicas	Característica histoquímica
Grãos de aleurona	iodo-glicerol	no corte histológico preparado com etanol 96 % ou glicerol, e adicionado de gotas de solução de iodo-glicerol, os grãos de aleurona adquirem coloração amarelo escura
Taninos	cloreto férrico vanilina/HCl	tecidos contendo taninos adquirem coloração azul-escura ou esverdeada o corte histológico é preparado com solução etanólica de vanilina 1 %. Após a evaporação do etanol, adiciona-se uma gota de HCl 36 %. Tecidos contendo taninos condensados adquirem coloração vermelha
Inulina	1-naftol/ H_2SO_4	o corte histológico é preparado com solução etanólica de 1-naftol 20 %. Após a evaporação do etanol, adiciona-se uma gota de H_2SO_4 96 %. A inulina é dissolvida, originando coloração violeta intensa.
Lignina	floroglucina/ HCl sulfato de anilina	o corte histológico é preparado com solução etanólica de floroglucina 1 %. Após a evaporação do etanol, adiciona-se uma gota de HCl 36 %. Tecidos lignificados adquirem coloração vermelha o corte histológico é preparado com solução de sulfato de anilina e os tecidos lignificados adquirem coloração amarela
Mucilagem	tinta da China azul de metileno	o corte histológico é preparado com solução de tinta da China, originando zonas claras de mucilagem intumescida na preparação escura o material é preparado com solução de azul de metileno 0,15 %, originando esferas de mucilagem de coloração violeta escura
Amido	iodo	ao corte histológico preparado com água, adiciona-se gotas de solução de iodo, corando os grãos de amido de azul-violeta escuro
Suberina, quitina, óleos fixos e voláteis	sudan III	o material é preparado com sudan III/glicerol, com aquecimento, corando de laranja-vermelho as estruturas ricas nestas substâncias

rização dos tricomas glandulares é um parâmetro de qualidade importante, tanto para a identificação do farmacógeno pulverizado, como também permite inferências a respeito da qualidade e teor do óleo volátil. Estudos demonstraram que, em condições de temperatura e umidade elevadas, pode ocorrer, no próprio tricoma glandular, responsável pela acumulação do óleo volátil, uma espécie de microdestilação por arraste de vapor d'água, levando à diminuição do teor de óleo volátil, bem como a uma deformação ou rompimento do tricoma. Resultados semelhantes foram também obtidos na análise dos tricomas glandulares de folhas de hortelã (Schilcher, 1987).

Também para a análise microscópica, é recomendada a comparação com lâminas preparadas no próprio laboratório, desenhos ou fotos de material autêntico, encontrados em diversos atlas histológicos (Rohdewald et al., 1986; Eschrich, 1988; Oliveira e Akisue, 1989; Bisset, 1994; Alquini e Take-mori, 2000).

4.2.3. Identificação através de constituintes químicos característicos

4.2.3.1. Reações químicas de caracterização

A identidade baseada nos constituintes químicos característicos da espécie exige conhecimentos fitoquímicos prévios. Esses dados devem objetivar o estabelecimento de reações químicas de caracterização desses constituintes ou de um perfil cromatográfico para a espécie, bem como o isolamento, a purificação e a elucidação estrutural das substâncias principais. Essas substâncias devem, preferencialmente, possuir uma relação com a atividade terapêutica e/ou com a identificação da espécie.

As reações químicas permitem verificar a presença de grupos de substâncias, por exemplo, flavonóides, alcalóides, esteróides, entre outros, sendo métodos simples, de rápida execução e baixo custo. Estas reações são, geralmente, inespecíficas, ocorrendo através de grupos funcionais ou estruturas comuns a várias substâncias. Algumas reações são consideradas específicas, ocorrendo somente com algumas estruturas típicas de uma única classe de substâncias. Essas reações são pouco eficazes como único método de identificação. A análise desses compostos em drogas vegetais exige a sua extração prévia, necessitando, em alguns casos, de metodologias específicas, como, por exemplo, na análise de alcalóides. Na tabela 6 são apresentados alguns exemplos de reações de caracterização. (Detalhes adicionais são encontrados no capítulo "Introdução à análise fitoquímica".)

TABELA 6

Exemplos de reações químicas de caracterização de constituintes vegetais

Constituintes analisados	Reações químicas inespecíficas	Reações químicas específicas
Alcalóides	Reação de Mayer Reação de Dragendorff Reação com ácido fosfomolibdico Reação com ácido pícrico	Reação de Wasicky (tropânicos) Reação de Otto (indólicos) Reação da murexida (metil-xantinas)
Heterosídeos cardiotônicos	Reação de Salkowsky Reação Liebermann-Burchard (núcleo esteróide)	Reação de Kedde (grupo cardenolídeo) Reação de Keller-Kiliani (desoxioses)
Flavonóides	Reação de Shinoda Reação de Pew	Reação de Wilson-Tauböck (flavonóis) Redução com boro-hidreto de sódio (flavanonas)
Antraquinonas	Reação de Bornträger Reação de Shoutelen	
Taninos	Reação com FeCl ₃ Reação com vanilina clorídrica	Precipitação com gelatina Precipitação com acetato de chumbo Precipitação com sais de alcalóides
Esteróides	Reação de Liebermann-Burchard	

4.2.3.2. Caracterização cromatográfica

A cromatografia constitui um processo físico-químico de separação dos constituintes de uma mistura, muito útil na análise de produtos vegetais. As diferentes técnicas cromatográficas como a cromatografia em camada delgada (CCD), a cromatografia em papel (CP), a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e a cromatografia gasosa (CG), entre outras, são as mais utilizadas na análise de drogas vegetais, principalmente quando acopladas a métodos de detecção adequados.

Para as análises de identificação é recomendada a determinação do perfil cromatográfico utilizando a técnica e o sistema cromatográfico adequados para o grupo de constituintes avaliado. Nessas análises, é recomendada a utilização de padrões das substâncias características, de extratos de amostra autêntica ou, na ausência destes, de substâncias marcadoras ou de referência. A análise cromatográfica é uma alternativa fundamental para a identificação de matérias-primas adquiridas na forma de preparados fitoterápicos intermediários (tinturas, extratos, óleos fixos e voláteis, entre outros).

Além da identificação, os métodos cromatográficos permitem inferências a respeito da pureza do material. A Farmacopéia Alemã (Deutsches, 1991), por exemplo, no ensaio de pureza de flores de arnica (*Arnica montana* L. ou *Arnica chamissonis* Less. ssp. *foliosa* (Nutt.) Maguire) determina a verificação da contaminação por *Calendula* ou *Heterotheca* (arnica-mexicana) por CCD. Além disso, a decomposição de alguns dos constituintes originais também pode ser verificada através dessa metodologia.

Empregando-se técnicas quantitativas na preparação das soluções de análise e padrões, bem como na detecção dos constituintes, a análise cromatográfica

tográfica permite a determinação do teor dos constituintes ativos ou principais. Com essa finalidade, emprega-se, na CCD, a densitometria. Na CLAE ou na CG o teor de substância é determinado no cromatograma através da área sob a curva ou da altura do pico, empregando-se curva de calibração dos constituintes analisados. A grande maioria dos equipamentos atuais possui dispositivos de integração que permitem esse cálculo.

A cromatografia em camada delgada, por ser uma metodologia simples, de custo acessível e de grande utilidade na análise de drogas vegetais, consta na maioria das monografias das Farmacopéias atualizadas (Deutsches, 1991; British, 1996; Farmacopéia Brasileira, 1997; 2000). Além disso, pode-se contar com algumas literaturas específicas sobre a análise de matérias-primas vegetais por CCD, as quais apresentam fotos ou desenhos de cromatogramas de diversas espécies medicinais (Pachaly, 1995; Wagner e Bladt, 1996).

Essas bibliografias, assim como as Farmacopéias, documento da Organização Mundial da Saúde (WHO, 1992; 1998) e outras literaturas específicas sobre o assunto (Collins et al., 1990) apresentam a descrição detalhada das técnicas citadas.

4.3. Verificação da pureza da amostra

Alguns critérios, tais como a presença de elementos estranhos à droga, teor de umidade, contaminação microbiológica e parasitária, resíduos de pesticidas e de metais pesados, entre outros, são, frequentemente estabelecidos nas farmacopéias de forma genérica para todas as drogas vegetais.

Na literatura são encontrados trabalhos de verificação da qualidade de amostras comerciais, constatando, principalmente, problemas de pureza. Brandão e colaboradores, analisando amostras de camomila, constataram a presença de insetos em 63,6% das amostras provenientes de empresas e comercializadas em farmácias de Belo Horizonte (Brandão et al., 1998). Abou-Arab e colaboradores encontraram resíduos de pesticidas, metais pesados e fungos em diferentes amostras de várias espécies medicinais comercializadas no Egito (Abou-Arab et al., 1999; 2000). Martins e colaboradores, analisando 63 amostras de 7 plantas medicinais comercializadas em Portugal, detectaram a contaminação com por *Bacillus cereus* em 96,8% das amostras (19,2% acima de 10^3 esporos/g) e esporos de *Clostridium perfringens* em 83,9% das amostras, sendo que em 19,2% acima de 10^3 esporos/g (Martins et al., 2001). Estes dados exemplificam a importância da realização dos ensaios de pureza, independente da procedência do material.

4.3.1. Pesquisa de elementos estranhos

As drogas vegetais apresentam, frequentemente, certas impurezas, que podem representar órgãos da própria planta, diferentes do farmacógeno, tais como restos de caules em flores de camomila, fragmentos de outras plantas,

como gramíneas e ervas daninhas, bem como materiais de outra origem, como areia ou terra em raízes e caules, mesmo quando cultivadas e tratadas adequadamente. Desde que esses elementos não caracterizem falsificação ou adulteração do material, são considerados como impurezas (Hartke, 1986).

A Farmacopéia Brasileira (2000) inclui ainda, como impurezas, a presença de fungos, insetos e outros materiais contaminantes. A OMS (WHO, 1998), seguindo as orientações das Farmacopéias Alemã e Britânica (Deutsches, 1991; British, 1996), preconiza a ausência de contaminações, visíveis, por fungos ou insetos, bem como outras contaminações animais, como excrementos em material vegetais para fins medicinais.

A Farmacopéia Brasileira (2000) classifica os elementos estranhos em três grupos:

a) partes do organismo ou organismos dos quais a droga deriva, excetuados aqueles incluídos na definição e descrição da droga, acima do limite de tolerância especificado na monografia – *p.ex. pedúnculos florais maiores que 2 cm em amostras de flores de camomila*.

b) quaisquer organismos, porções ou produtos de organismos além daqueles especificados na definição e descrição da droga em sua respectiva monografia – *partes de outras espécies vegetais, insetos, etc.*

c) impurezas de natureza mineral não inerentes à droga, tais como pedras, areia ou terra.

Para as Farmacopéia Alemã e Britânica (Deutsches, 1991; British, 1996), são considerados elementos estranhos:

a) partes da planta, que não correspondam ao farmacógeno descrito na monografia farmacopéica;

b) partes de outras plantas ou elementos de origem mineral.

Algumas literaturas apresentam tabelas, estabelecendo a quantidade de amostra a ser analisada, de acordo com a granulometria ou o tipo de farmacógeno empregado (Farmacopéia Brasileira, 2000; WHO, 1998). A amostra a ser analisada é inicialmente pesada (geralmente entre 100 e 500 g), separando-se através de exame visual, inicialmente sem auxílio de lupa e, posteriormente, empregando uma lente de aumento (6x), os elementos estranhos. O material separado é pesado, determinando-se o percentual em peso. O material estranho separado é analisado e classificado visualmente e, em alguns casos, alguns elementos são considerados separadamente. No caso da monografia da camomila, por exemplo, a Farmacopéia Brasileira aceita até 5% de pedúnculos. De maneira geral, o percentual máximo aceitável de elementos estranhos, se não especificado na monografia, é 2% (m/m).

4.3.2. Pesquisa de constituintes químicos indesejáveis

A verificação da presença de constituintes químicos vegetais indesejáveis é preconizada em algumas monografias farmacopéicas como um dos critérios de pureza da amostra. Na análise de frutos de erva-doce (*Pimpinella anisum* L.), é indicada a realização da reação com hidróxido de potássio e verificação do desprendimento de odor desagradável (de urina de rato), o qual caracteriza a presença de coniina, um alcalóide tóxico presente em frutos de cicuta (*Conium maculatum* L.), os quais já foram encontrados como contaminantes de amostras de erva-doce.

As cascas frescas de cáscara-sagrada (*Rhamnus purshiana* DC.) possuem, predominantemente, antronas e diantronas na forma reduzida, as quais podem causar irritação da mucosa gástrica, vômitos, cólicas e diarreia sanguinolenta. Para a utilização dessa planta é preconizada a secagem das cascas em corrente de ar quente ou o seu armazenamento por um ano antes do uso, para que ocorra a oxidação destes compostos. Portanto, na análise de amostras de cáscara-sagrada, a presença de antronas indica que o material ainda não está adequado para o uso (Bisset, 1994).

As aflatoxinas são substâncias tóxicas produzidas pelo fungo *Aspergillus flavus*, sendo preconizada, principalmente para drogas oleaginosas, a análise dessas substâncias, paralelamente com a verificação da contaminação por microrganismos, através de metodologia por CCD para a determinação da presença de aflatoxinas (WHO, 1998).

A análise de substâncias químicas indesejáveis pode ser realizada através de reações químicas de caracterização ou empregando métodos cromatográficos. A Farmacopéia Alemã (Deutsches, 1991) indica a CCD como método de determinação da pureza em várias monografias.

4.3.3. Determinação do teor de cinzas

A determinação do teor de cinzas permite a verificação de impurezas inorgânicas não-voláteis que podem estar presentes como contaminantes. O material é colocado em cadinho de porcelana ou de platina e quantitativamente incinerado, até peso constante. Frequentemente, é recomendado o tratamento prévio da amostra com ácido sulfúrico (cinzas sulfatadas), aumentando a reprodutibilidade do método, sendo, geralmente, o mais indicado para drogas vegetais (Hartke, 1986). Esses ensaios são realizados em triplicata, sendo as técnicas detalhadamente descritas na literatura (Farmacopéia Brasileira, 1988; Deutsches, 1991; WHO, 1998).

No caso de farmacógenos é preconizada a determinação das cinzas insolúveis em ácido clorídrico, permitindo, por exemplo, a verificação de contaminantes como resíduo de terra ou areia em raízes (Hartke, 1986). Para essa análise podem ser utilizadas também as metodologias de cinzas sulfatadas ou

de cinzas não tratadas. A OMS preconiza, ainda, a determinação do teor de cinzas insolúveis em água (WHO, 1998).

4.3.4. Determinação do teor de umidade

O excesso de umidade em matérias-primas vegetais permite a ação de enzimas, podendo acarretar a degradação de constituintes químicos, além de possibilitar o desenvolvimento de fungos e bactérias. O teor máximo de umidade estabelecido nas diferentes farmacopéias varia entre 8 e 14%, com poucas exceções especificadas nas monografias.

Diversos métodos podem ser empregados. A Farmacopéia Brasileira (1988) preconiza os métodos gravimétrico, da destilação azeotrópica e volumétrico (Karl Fischer). O método gravimétrico, também descrito nas Farmacopéias Britânica e Alemã e pela OMS, é mais adequadamente denominado perda por dessecação (Deutsches, 1991; WHO, 1992; British, 1996).

O método gravimétrico é de simples execução, determinando o percentual de material volatilizado após a dessecação. No caso de plantas contendo, por exemplo, elevado teor de óleo volátil, o percentual de perda de massa poderá ser consideravelmente maior. A técnica pode variar de uma farmacopéia para outra, sendo, geralmente, recomendada a utilização de 2 a 5 g de material rasurado (no máximo 3 mm; frutos, mesmo de dimensões inferiores, devem ser rasurados ou quebrados), secagem em estufa entre 100 a 105°C e resfriamento, em dessecador. O ciclo de aquecimento-resfriamento é repetido até que a diferença entre duas pesagens sucessivas não exceda a 5 mg (WHO, 1998). Alternativamente, podem ser empregadas balanças acopladas à sistema de secagem por irradiação infra-vermelha. Outra técnica farmacopéica prescreve a manutenção do material vegetal em dessecador, sob pentóxido de fósforo, à pressão atmosférica e temperatura ambiente. Também pode ser recomendado procedimento sob pressão reduzida. A secagem sob pentóxido de fósforo é recomendada para drogas contendo resinas ou substâncias voláteis que sofrem alteração do estado físico de 100 a 105°C, originando uma massa disforme após a secagem em estufa (Lou, 1980; Hartke, 1986; Farmacopéia Brasileira, 1988; British, 1996; WHO, 1998).

No método de destilação azeotrópica é determinada a quantidade de água presente no vegetal, destilando-se o material juntamente com tolueno ou xileno. Nesse método, emprega-se aparelhagem específica, variando o modelo de acordo com a Farmacopéia. Lou (1980) apresenta uma tabela comparativa entre os modelos apresentados nas Farmacopéias Americana, Chinesa, Européia, da Alemanha Oriental e Rússia, concluindo que os modelos das Farmacopéias Européia e da Alemanha Oriental apresentam o melhor desenho. A Farmacopéia Brasileira, 4ª edição, preconiza o aparelho proposto por Dean e Stark. A técnica consiste em destilar, inicialmente, 200 ml de tolueno saturado com água, adicionado de 2 ml de água, por 2 h. Após o resfriamento, faz-se a medida do

volume de água destilado. A seguir, adiciona-se o material vegetal a ser analisado e alguns fragmentos de material inerte poroso, aquecendo-se brandamente por 15 min. Destila-se a um fluxo determinado. Após o término da destilação da água, lava-se o condensador com tolueno e destila-se por mais 5 min. Ao final do procedimento, após o resfriamento, há a separação das fases e o volume de água é medido no tubo coletor, desconta-se o volume inicial e calcula-se o percentual de água na amostra Farmacopéia Brasileira, 2000; WHO, 1998).

4.3.5. Pesquisa de contaminantes microbiológicos

As drogas vegetais podem conter um grande número de fungos e bactérias, geralmente provenientes do solo, pertencentes à microflora natural de certas plantas ou mesmo introduzidas durante a manipulação. Dependendo das condições de manejo, secagem e armazenamento, microorganismos viáveis podem desenvolver-se, intensificando a contaminação (WHO, 1998).

A determinação dos limites de tolerabilidade é discutida em vários países, sendo frequentemente aceitos os valores estabelecidos para alimentos. A OMS estabelece para as drogas vegetais os seguintes critérios (WHO, 1998):

a) material não tratado, coletado em condições higiênicas e que será processado, incluindo procedimentos de descontaminação química ou física, como por exemplo, aquecimento, extração com álcool, etc:

i) *Escherichia coli*: máximo 10^4 /g.

ii) Fungos: máximo 10^5 /g.

b) plantas que serão submetidas a tratamento que pode conduzir a uma redução do número de microrganismos, antes do uso, como por exemplo, com água fervente para a preparação de uma infusão:

i) Microrganismos aeróbios: máximo 10^7 /g.

ii) Fungos e leveduras: máximo 10^4 /g.

iii) *Escherichia coli*: máximo 10^2 /g.

iv) Outras enterobactérias: máximo 10^4 /g.

v) *Salmonellae*: ausente

c) Outras plantas para uso interno:

i) Microrganismos aeróbios: máximo 10^5 /g.

ii) Fungos e leveduras: máximo 10^3 /g.

iii) *Escherichia coli*: máximo 10/g.

iv) Outras enterobactérias: máximo 10^3 /g.

v) *Salmonellae*: ausente

As técnicas de determinação da carga microbiana estão descritas na publicação da Organização Mundial da Saúde, bem como nas farmacopéias. A Farmacopéia Brasileira não estabelece limites específicos para drogas vegetais, sendo detalhadamente descritos os métodos de filtração por membrana, contagem em placa ou em tubos múltiplos, aplicáveis à contagem de micror-

ganismos viáveis em produtos que não necessitam cumprir com o teste de esterilidade (Farmacopéia Brasileira, 1988).

A Organização Mundial da Saúde também diferencia limites, de acordo com o destino do material, apresentando alguns valores diferentes da Farmacopéia Européia (WHO, 1992). As técnicas de determinação da carga microbiana estão descritas na publicação da Organização Mundial da Saúde, bem como nas farmacopéias.

4.3.6. *Pesquisa de agrotóxicos ou pesticidas*

Como agrotóxicos ou pesticidas consideram-se os diferentes produtos empregados no combate a organismos danosos às plantas, tais como: raticidas (contra ratos, camundongos e outros roedores); inseticidas (contra vários insetos e alguns artrópodos); herbicidas (contra ervas indesejáveis) e fungicidas (contra os diferentes tipos de fungos). As técnicas de análise estabelecidas para essas substâncias dependem do grupo químico a que pertencem. Segundo a estrutura ou composição química, a Organização Mundial da Saúde (WHO, 1998) apresenta a classificação das substâncias mais frequentemente empregadas (hidrocarbonetos clorados e agrotóxicos correlatos, derivados clorados do ácido fenóxi-acético, organofosforados, carbamatos, ditiocarbamatos, inorgânicos, de origem vegetal e outros).

A presença de agrotóxicos em drogas vegetais pode ser decorrente da contaminação accidental de plantas silvestres que crescem nas proximidades de áreas de cultivo agrícola intensivo, do emprego impróprio dessas substâncias em culturas de plantas medicinais ou do tratamento inadequado das drogas armazenadas. Entre os diversos produtos, os hidrocarbonetos clorados e alguns organofosforados possuem ação residual prolongada, os demais possuem, geralmente, uma ação residual muito curta. Portanto, a Organização Mundial da Saúde recomenda, principalmente no caso de matérias-primas de origem duvidosa, a realização de testes para a verificação da presença ou quantificação de organoclorados e organofosforados (WHO, 1998).

Os limites toleráveis de agrotóxicos, semelhantemente à contaminação microbiana, também estão diretamente relacionados às regulamentações para alimentos. No entanto, esses limites têm sido discutidos, considerando que as plantas medicinais geralmente sofrem algum tipo de processamento, como a extração. Ali (1987) estudou o teor de pesticidas organoclorados em 45 lotes de 14 espécies e demonstrou que os chás preparados a partir dessas drogas continham entre 3 e 67% do teor do agrotóxico encontrado no material de partida. Em 90% das drogas o teor encontrado no chá foi inferior a 25% do teor original. Schilcher et al. (1987) demonstraram que, dependendo das características do agrotóxico, bem como do tipo de extração e solvente extrator, o percentual extraído pode variar, por exemplo, de 1% (*p,p*-DDT em extrato aquoso) a 89% (HCH em um extrato diclorometano) do teor encontrado na droga.

Outros autores, contudo, argumentam que, como muitas preparações medicinais de origem vegetal são empregadas por períodos prolongados, é recomendado o estabelecimento de limites específicos para plantas medicinais, a partir das determinações da FAO (*Food and Agriculture Organization*). A OMS (WHO, 1998) apresenta a fórmula abaixo para o cálculo do limite máximo de resíduo - LMR (em mg de pesticida por kg de planta), com base na dose diária aceitável do pesticida para humanos (DDA), recomendadas pela FAO e pela OMS, na dose média ingerida diariamente da planta medicinal (DMI) e no fator de extração (E), o qual determina o teor de pesticida da planta na forma final de dosagem, 60 no numerador representa o peso corporal médio de um adulto. Esta fórmula considera que, no máximo, 1% do total de pesticida ingerido por um indivíduo adulto seria proveniente de plantas medicinais, sendo que 100 no denominador representa este fator de consumo.

$$\text{LMR} = \frac{\text{DDA} \times \text{E} \times 60}{\text{DMI} \times 100}$$

Do ponto de vista analítico, esses ensaios são relativamente complexos, devido à grande variedade de substâncias, bem como a sua instabilidade e às pequenas quantidades a serem detectadas. O conhecimento da origem geográfica do plantio ou da coleta pode auxiliar no estabelecimento dos possíveis agentes empregados. A Organização Mundial da Saúde (WHO, 1998) sugere que quando a natureza do pesticida não é conhecida, a determinação do teor total de organoclorados, calculando-se com base no nível residual aceitável (ARL – *acceptable residue level*) do pesticida organoclorado mais tóxico (p. ex. aldrin ou dieldrin), seria suficiente. Na determinação do teor destes contaminantes, geralmente, são empregados métodos cromatográficos, especialmente cromatografia gasosa (CG) e cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). O assunto é discutido detalhadamente em documentos da OMS, com diversas técnicas de análise, assim como outras publicações específicas (Ali, 1987; Schilcher et al., 1987).

4.3.7. Pesquisa de metais pesados

O estabelecimento de limites de tolerância para esses elementos em plantas medicinais tem sido discutido. Algumas legislações consideraram adequados os limites determinados para alimentos, outras, no entanto, entendem que as drogas vegetais devem seguir os mesmos critérios fixados para as demais matérias-primas farmacêuticas e medicamentos. A Portaria 685/SVS de 27.8.1998, D.O.U. de 28.8.1998, republicada em 24.9.1998, estabelece os limites máximos de tolerância para contaminantes inorgânicos.

Estudos da FAO/WHO estabeleceram como tolerável a ingestão semanal de, no máximo, 3000 µg de chumbo ou 500 µg de Pb/dia, juntamente com a alimentação e água (WHO, 1972). Admitindo que 20% desse total (100 µg

de Pb/dia) poderia advir da ingestão de medicamentos, Hartke (1986) apresenta uma tabela relacionando a dose diária de medicamento, com o limite máximo de chumbo (tabela 7). Sendo assim, o limite deve ser mais rigoroso quanto maior a dose diária ingerida.

TABELA 7

Correlação entre a ingestão diária de medicamento e o limite máximo de chumbo

ingestão diária do medicamento	dose diária máxima de Pb	limite máximo para o teor de Pb
100 g ¹⁾	100 µg	1 ppm
10 g ²⁾	50 µg	5 ppm
1 g	25 µg	25 ppm
0,1 g	10 µg	100 ppm
0,01 g	1 µg	1000 ppm

¹⁾ p. ex.: xaropes, ou ingestão de açúcar ou água; ²⁾ p. ex.: adjuvantes

No caso das plantas medicinais, os procedimentos usuais de extração de drogas vegetais são capazes de extrair percentuais que variam de 3% a 48% do teor de metais pesados presentes na droga (Ali, 1987; Schilcher et al., 1987). Além disso, em alguns casos, existem possibilidades tecnológicas que permitem a descontaminação do vegetal (Schilcher et al., 1987).

Segundo Schilcher et al. (1987), os métodos de análise farmacopéica tradicionais, baseados nos ensaios-limite, não são seletivos para metais pesados específicos, além de apresentarem pouca sensibilidade e baixa precisão. Os autores recomendam como metodologias adequadas a espectrofotometria de absorção atômica, espectrometria de emissão atômica ou voltimetria inversa.

4.4. Ensaios quantitativos e semi-quantitativos de constituintes químicos

Estes ensaios destinam-se à determinação do teor de substâncias ativas presentes nas drogas vegetais e dependem da classe dessas substâncias. Geralmente é determinado o teor de um grupo de substâncias, como por exemplo, derivados antraquinônicos de sena ou alcalóides totais de beladona. Em alguns casos pode ser necessário o doseamento de um constituinte específico, por exemplo, reserpina em espécies de *Rauvolfia*. A classe de substâncias a ser analisada deve, preferentemente, estar relacionada com a atividade terapêutica da droga vegetal. Contudo, isto nem sempre é possível, pois em certos casos ainda não existe uma correlação precisa entre os constituintes químicos, as atividades farmacológicas descritas para o vegetal e seu emprego terapêutico.

O teor de constituintes químicos de espécies vegetais pode variar consideravelmente com a época e local de coleta, formas de cultivo, condições climáticas, idade do material vegetal, período e condições de armazenamento, entre outros. Sendo assim, a definição do limite mínimo aceitável baseia-se em estu-

dos científicos sistemáticos, os quais permitiram a definição dos teores em matérias-primas de qualidade aceitável. O teor de óleo volátil de flores de camomila pode variar entre 0,3 e 1,5%, sendo preconizado, na maioria das farmacopéias, um mínimo de 0,4%. Segundo alguns autores, devido a essa grande variabilidade, os teores mínimos estabelecidos são baixos. Como consequência, existe uma tendência comercial de misturar drogas de teores elevado e baixo de constituintes ativos, evitando variações entre os lotes (Evans, 1996).

O doseamento dos constituintes pode ser realizado de acordo com o tipo de substâncias, empregando-se metodologias adequadas para cada caso. Atualmente existem várias técnicas de cromatografia líquida de alta eficiência. No entanto, ainda são poucas as monografias farmacopéicas que empregam essa metodologia. Franz (1992) apresenta um grande número de técnicas para diferentes drogas.

Para as drogas contendo óleos voláteis, é preconizada a extração do óleo essencial por arraste de vapor d'água, segundo parâmetros pre-estabelecidos, e determinação volumétrica ou gravimétrica da quantidade de óleo extraída. Lou (1980) apresenta uma comparação entre os parâmetros e equipamentos preconizados em diferentes farmacopéias para essa finalidade, considerando o aparelho descrito na Farmacopéia Européia (1969-1977) o mais adequado. Esse mesmo equipamento é preconizado pela Farmacopéia Brasileira (Farmacopéia Brasileira, 1988).

Flavonóides, taninos, alcalóides, antraquinonas e um grande número de grupos de compostos podem ser dosados empregando-se métodos titulométricos ou espectroscópicos, especialmente no ultravioleta ou visível. Esses métodos, normalmente, exigem extração e tratamento específico para cada grupo de substâncias. No entanto, a aplicação generalizada dessas técnicas, em alguns casos, é problemática, sendo necessárias adaptações da metodologia descrita para uma droga específica e imprescindível a sua validação.

Para alguns grupos de compostos podem ser empregados métodos semi-quantitativos baseados em atividades biológicas ou propriedades físico-químicas tais como o índice de intumescimento, para drogas contendo mucilagens, índice de amargor, para plantas amargas, o índice de hemólise e índice de espuma, para drogas contendo saponinas. Esses métodos são preconizados em algumas monografias para a verificação da pureza da amostra ou como ensaio de identificação.

Para drogas amargas, o índice de amargor pode ser empregado como um método semi-quantitativo. O índice de amargor é calculado como o valor recíproco da maior diluição em que o sabor amargo é percebido. Por tratar-se de um ensaio biológico, a sensibilidade individual do probante deve ser determinada. Para tanto, é empregada solução de uma substância amarga, geralmente cloridrato de quinina, cujo índice de amargor é 200.000, ou ainda brucina.

Drogas contendo mucilagens são analisadas através da determinação do índice de intumescimento. Esse índice corresponde ao aumento do volume

de 1 g da amostra após o intumescimento em contato com um volume pré-estabelecido de água por 4 horas (Hartke, 1986).

A tabela 8 apresenta alguns exemplos de metodologias de doseamento de acordo com a classe de constituintes, bem como de exemplos de teores mínimos preconizados em algumas farmacopéias.

5. DOCUMENTAÇÃO E PROTOCOLOS DE ANÁLISE

De acordo com o preconizado pelas Boas Práticas de Fabricação (RDC 134/ANVISA de 13/7/2001), todos os procedimentos que envolvem a produção e o controle de qualidade de medicamentos devem ser devidamente documentados. A formalização por escrito é essencial para a segurança da qualidade, evitando os riscos inerentes da comunicação oral. Além disso, essa prática permite o acompanhamento dos procedimentos bem como a sua reconstituição quando necessário.

No caso de fitoterápicos, essa documentação deve compreender os dados referentes à origem da matéria-prima, aos protocolos de controle de qualidade da matéria-prima, do processamento desta e dos produtos intermediários e final. A seguir, é apresentado um exemplo de ficha agrônômica para a documentação da origem da matéria-prima, elaborado a partir dos modelos propostos em Corrêa Jr. et al., 1994 e Dorneles, 1997, bem como um exemplo de protocolo de controle de qualidade da matéria-prima (figuras 2 e 3).

TABELA 8
Exemplos de metodologias de doseamento por classe de constituintes
(Farmacopéia Brasileira, 1988; Deutsches, 1991)

Classe de constituintes	Metodologia	Exemplos (teor ou índice mínimos)
óleos voláteis	extração por arraste de vapor d'água e determinação gravimétrica	- flores de camomila (0,4%) - folhas de boldo (1,5%)
alcalóides totais	extração específica para alcalóides e titulação indireta do excesso de H_2SO_4 com NaOH, em presença de vermelho de metila	- folhas de boldo (0,2%) - folhas ou folíolos de jaborandi (0,4%)
heterosídeos hidroxiantracênicos	extração dos heterosídeos, oxidação com $FeCl_3$, realização da reação de Bornträger e determinação fotométrica	- frutos de sene (4%) - folíolos de sene (2,5%) - cascas de cascara-sagrada (8%)
flavonóides totais	hidrólise dos heterosídeos com acetona/HCl em presença de metenamina e extração das agliconas com acetato de etila. Complexação com $AlCl_3$ e determinação fotométrica	- partes aéreas de maracujá (0,4%)
mucilagens	determinação do índice de intumescimento	- folhas de malva (7) - sementes de plantago (10)
saponinas	- determinação do índice de espuma - determinação do índice de hemólise	
drogas amargas	determinação do índice de amargor	- raiz de genciana (10000)

FIA	Nome da Empresa Endereço completo	FICHA Nº
Ficha de Informações Agronômicas		
Nome do fornecedor:	CEP:	
Endereço:	Telefone/Fax:	
Município/Estado:	Inscrição no IBAMA:	
Nome do destinatário:		
Endereço:	CEP:	
Município/Estado:	Telefone/Fax:	
Nome científico:	Nº da exsicata *:	
Nome popular:		
Botânico que identificou:		
Origem do material: silvestre ☐		
cultivado ☐		
Nome do coletor:		
Data da coleta:		
Local de coleta:		
Parte da planta colhida:		
Fase de desenvolvimento da planta:		
Tipo de solo:		
Tratamento especial:		
Condições do tempo durante a coleta:		
Método de secagem:		
Tempo de secagem:	Temperatura de secagem:	
Observações e informações complementares:		
Nome do informante:		
Data: — / — / — Assinatura do informante		

* deve acompanhar o material

Figura 2. Exemplo de ficha agronômica para a matéria-prima, elaborado a partir dos modelos propostos em Corrêa Jr. et al., 1994 e Dorneles, 1997

PCQMP	Nome da Empresa Endereço completo	FICHA Nº
Protocolo de Controle da Qualidade de Matéria-Prima		
Material a ser analisado:		
Identificação da matéria-prima:		
Fornecedor:	No do lote:	
Nome científico:	Nº da embalagem:	
Nome popular:	Data de validade:	
Análise sensorial:		
Odor:		especificação resultado
Sabor:		
Cor:		
Observações e informações complementares:		
Autenticidade da amostra:		
Caracteres botânicos macroscópicos:		
Caracteres botânicos microscópicos:		
Reações químicas de caracterização:		
a)		
b)		
Cromatograma:		
Verificação da pureza:		
Pesquisa de elementos estranhos:		
Pesquisa de constituintes indesejáveis:		
Teor de cinzas:		
Perda por dessecação:		
Pesquisa de contaminantes microbiológicos:		
1. microrganismos aeróbios viáveis (totais):		
2. enterobactérias e outras bactérias gram-negativas:		
3. <i>Escherichia coli</i> :		
4. <i>Salmonella</i> :		
Pesquisas de agrotóxicos ou pesticidas:		
a) DDT		
b) Óxido de etileno:		
Pesquisas de metais pesados:		
Ensaio quantitativo: Teor mínimo:		
Doseamento:		
Teor percentual encontrado:		
Decisão final: ☐ Aprovado ☐ Rejeitado		
Responsável:		
Data: — / — / —		Assinatura do responsável

Figura 3. Exemplo de protocolo de controle da qualidade da matéria-prima

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABOU-ARAB, A.A.K.; KAWTHER, M.S.; EL TANTAWY, M.E.; BADEAA, R.I.; KHAYRIA, N. Quantity estimation of some contaminants in commonly used medicinal plants in the Egyptian market. *Food Chem.*, v.67, p.357-63, 1999.
- ABOU-ARAB, A.A.K.; DONIA, M.A.A. Heavy metals in Egyptian spices and medicinal plants and the effect of processing on their levels. *J. Food Chem.*, v.48, p.2300-4, 2001.
- ALI, S.L. Bestimmung der Pestizidrückstände und toxischen Schwermetallspuren in Arzneidrogen und deren Teeaufgüssen. *Pharm. Ztg.*, v.132, n.11, p.633-38, 1987.
- ALQUINI, Y.; TAKEMORI, N.K. *Organização estrutural de espécies vegetais de interesse farmacológico*. Curitiba: Herbarium, 2000.
- BISSET, N.G. (ed.). *Herbal drugs and phytopharmaceuticals: a handbook for practice on a scientific basis*. Boca Raton-London: CRC, Stuttgart: Medpharm Scientific, 1994.
- BRANDÃO, M.G.L.; FREIRE, N.; VIANNA-SOARES, C.D. Vigilância de fitoterápicos em Minas Gerais. Verificação da qualidade de diferentes amostras comerciais de camomila. *Cadernos de Saúde Pública*, v.14, n.3, p.613-16, 1998.
- BRASIL, Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância Sanitária. *Boas práticas para a fabricação de produtos farmacêuticos*. Brasília: 1994 [Tradução da Resolução WHA47.11, 32 relatório técnico]
- BRASIL, Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução de Diretoria Colegiada nº 134 de 13.7.2001. *Diário Oficial da União*, 16.7.2001.
- BRITISH HERBAL PHARMACOPOEIA. 4. ed. Bournemouth: British Herbal Medicine Association, 1996.
- CARLE, R. Kamillenöl. Gewinnung und Qualitätsbeurteilung. *Dtsch. Apoth. Ztg.*, v. 136, n. 26, p. 2165-76, 1996.
- COLLINS, C.H.; BRAGA, G.L.; BONATO, P.S. (coord.). *Introdução a métodos cromatográficos*. 4. ed., Campinas: Unicamp, 1990.
- CORRÊA JUNIOR, C.; MING, L.C.; SCHEFFER, M.C. *Cultivo de plantas medicinais, condimentares e aromáticas*. 2. ed. Jaboticabal: FUNEP, 1994.
- DEUTSCHES ARZNEIBUCH. 10. Aufl. Stuttgart: Deutscher Apotheker, Eschborn: GOVI, 1991.
- DORNELLES, J. *Boas normas de manipulação para matérias-primas vegetais*. Porto Alegre: Faculdade de Farmácia, UFRGS, 1997. Trabalho de Conclusão da disciplina de Estágio Curricular em Farmácia.
- ESCHRICH, W. *Pulver-Atlas der Drogen des Deutschen Arzneibuches*. 5. ed. Stuttgart: Gustav Fischer, 1988.
- EVANS, W.C. *Trease & Evans's pharmacognosy*. 14. ed. London: W. B. Saunders, 1996.
- FARMACOPÉIA BRASILEIRA. 4. ed. Rio de Janeiro: Ateneu, 1988. V.1.
- FARMACOPÉIA BRASILEIRA. 4. ed. Rio de Janeiro: Ateneu, 1997. V.2.
- FRANZ, G.; KOEHLER, H. *Drogen und Naturstoffe*. Berlin: Springer, 1992.
- GAEDCKE, F.; STEINHOFF, B. *Phytopharmaka*. Stuttgart: Wissenschaftliche, 2000.
- HARTKE, K. (Hrsgb.) *Deutsches Arzneibuch 9-Kommentar*. Stuttgart: Wissenschaftliche, Frankfurt: Govi. 1986.
- IHRIG, M.; BLUME, H. Zur Beurteilung von Phytopharmaka aus pharmazeutischer Sicht. *Pharm. Ztg.*, v. 137, n. 36, p. 2715-2725, 1992.
- KNORST, M. *Desenvolvimento tecnológico de forma farmacêutica plástica contendo extrato concentrado de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. *Compositae* (Marcela)*. Porto Alegre: Curso de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, 1991. Dissertação de Mestrado em Ciências Farmacêuticas.

- LOU, ZHI-CEN. *General control methods for vegetable drugs. Comparative study of methods included in thirteen pharmacopoeias and their proposals on their international unification*. WHO/PHARM/80.502. 1980.
- MARTINS, H.M.; MARTINS, M.L.; DIAS, M.I.; BERNARDO, F. Evaluation of microbiological quality of medicinal plants used in natural infusions. *Int. J. Food Microbiol.*, v.68, p.149-53, 2001.
- MÜLLER, B.; RUHNKE, A. Qualitätsprüfung vom Knoblauchpulver. *Dtsch. Apoth. Ztg.*, v. 133, n. 24, p. 2177-87, 1993.
- OLIVEIRA, F.; AKISUE, G. *Fundamentos de farmacobotânica*. São Paulo: Atheneu, 1989.
- OLIVEIRA, F.; AKISUE, G.; AKISUE, M.K. *Farmacognosia*. São Paulo: Atheneu, 1991.
- PACHALY, P. *DC-Atlas*. Stuttgart: Wissenschaftliche, 1995.
- ROBBERS, J.E.; SPEEDIE, M.K.; TYLER, V.E. *Pharmacognosy and Pharmacobiotechnology*. Baltimore: Williams & Wilkins, 1996.
- ROHDEWALD, P.; RÜCKER, G.; GLOMBITZA, K.W. *Apothekengerechte Prüfverfahren*. Stuttgart: Deutscher Apotheker, 1986.
- SCHILCHER, H. *Die Kamille. Handbuch für Ärzte, Apotheker und andere Naturwissenschaftler*. Stuttgart: Wissenschaftliche, 1987.
- SCHILCHER, H.; PETERS, H.; WANK, H. Pestizide und Schwermetalle in Arzneipflanzen und Arzneipflanzen-Zubereitungen. *Pharm. Ind.*, v. 49, n. 2, p. 203-11, 1987.
- SONAGLIO, D. *Padronização de extrato hidroalcoólico das sumidades floridas de Achyrocline satureioides (Lam.) DC. - Compositae (marcela)*. Porto Alegre: Curso de Pós-graduação em Farmácia, UFRGS, 1987. Dissertação de mestrado em Farmácia.
- TAMURA, Y.; NISHIBE, S. Changes in the concentrations of bioactive compounds in plantain leaves. *J. Agric. Food Chem.* V.50, p.2514-2518, 2002.
- WAGNER, H.; BLADT, S. *Plant Drug Analysis. A Thin Layer Chromatography Atlas*. 2. ed. Berlin: Springer, 1996.
- WHO. Techn. Report Series nº. 505. 16th REPORT of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Genf 1972.
- WHO. *Quality control methods for medicinal plant materials*. WHO/PHARM/92.559. 1992.
- WHO. *Quality control methods for medicinal plant materials*. Geneva: World Health Organization, 1998. 115p.

7. SUGESTÕES PARA LEITURA

- WHO. *Quality control methods for medicinal plant materials*. Geneva: World Health Organization, 1998. 115p.
- SAMUELSSON, G. *Drugs of natural origin*. Stockholm: Swedish Pharmaceutical, 1992. cap. 3, p. 17-26.
- FARIAS, M.R.; SCHENKEL, E.P.; BERGOLD, A.M.; PETROVICK, P.R. O problema da qualidade dos fitoterápicos. *Caderno de Farmácia*, Porto Alegre, v. 1, n. 2, p. 73-82, 1985.

DESENVOLVIMENTO TECNOLÓGICO E PRODUÇÃO DE FITOTERÁPICOS

AUTORES

Diva Sonaglio
George González Ortega
Pedro Ros Petrovick
Valquíria Linck Bassani

SUMÁRIO DO CAPÍTULO

1. Introdução
2. Desenvolvimento tecnológico de fitoterápicos
3. Produção e controle de qualidade de fitoterápicos
4. Formas farmacêuticas
5. Operações de transformação
6. Considerações finais
7. Referências bibliográficas
8. Sugestões para leitura

1. INTRODUÇÃO

A definição de produto fitoterápico, segundo a Resolução de Diretoria Colegiada nº 17/2002 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde do Brasil (Brasil, 2000), deixa entrever que a transformação de uma planta em medicamento deve visar à preservação da integridade química e farmacológica do vegetal, garantindo a constância de sua ação biológica e a segurança de utilização, além de valorizar o seu potencial terapêutico. Para alcançar esses objetivos, a produção de fitoterápicos requer necessariamente, estudos prévios relativos a aspectos botânicos, agrônômicos, químicos, farmacológicos, toxicológicos, de desenvolvimento de metodologias analíticas e tecnológicas (Petrovick et al., 1997). Essa fundamentação científica, necessária para o desenvolvimento de um produto fitoterápico propriamente dito, o diferencia das plantas medicinais e das preparações utilizadas na medicina popular. Ao mesmo tempo, essa prática resulta numa hierarquização das plantas medicinais quanto ao conhecimento científico acumulado e, portanto, refere-se também, à potencialidade de uso na produção de medicamentos.

2. DESENVOLVIMENTO TECNOLÓGICO DE FITOTERÁPICOS

Para o desenvolvimento tecnológico de um produto fitoterápico são necessários estudos prévios em diversas áreas do conhecimento, sucintamente descritos a seguir.

Estudos botânicos

Esses estudos têm como objetivo a identificação inequívoca de uma espécie vegetal, através da análise de características anatômicas e morfológicas procurando destacar aquelas consideradas peculiares de uma determinada espécie e que, em última instância, estejam presentes na matéria prima vegetal. Da mesma forma, é importante o estabelecimento de características botânicas comparativas que permitam detectar a presença de uma ou mais espécies adulterantes.

Estudos agronômicos

A partir de uma concepção atual, esses estudos visam à produção abundante e homogênea de matéria-prima, preservando, ao mesmo tempo, o meio ambiente, a espécie e a biodiversidade. Os principais aspectos a serem investigados visam à otimização da produção de biomassa e de constituintes ativos, através de estudos edafo-climáticos, de micropropagação, interrelações ecológicas, densidade de plantio, necessidades nutricionais, ocorrência de pragas, beneficiamento e armazenagem, bem como de melhoramento genético da espécie (Ikuta, 1993).

Estudos químicos

Compreendem as etapas de isolamento, elucidação estrutural e identificação dos constituintes mais importantes do vegetal, responsáveis ou não pela ação biológica. Esses conhecimentos permitem identificar a espécie vegetal e, conjuntamente com ensaios de atividade biológica, analisar e caracterizar frações ou substâncias bioativas.

Outra aplicação consiste no estabelecimento de marcadores químicos, que são indispensáveis para o planejamento e monitoramento das ações de transformação tecnológicas e para os estudos de estabilidade dos produtos intermediário e final. Nesse sentido, o conhecimento da estrutura química tem especial relevância no caso de substâncias facilmente degradáveis por fatores tais como luz, calor e solventes, atrelados ao processo tecnológico. Tal é o caso dos polifenóis ou dos taninos presentes em *Mikania* spp. e em *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reissek, do bisabolol na *Chamomilla recutita* (L.) Rauschert e da *Achillea millefolium* L., das cumarinas em *Mikania glomerata* Spreng., assim como de inúmeros compostos heterocíclicos e polifuncionais de distribuição abundante na natureza.

Estudos de atividade biológica

A avaliação da atividade biológica inclui a investigação da atividade farmacológica e toxicológica de substâncias isoladas, de frações ou extratos da droga vegetal. A necessidade de constatar e verificar a atividade biológica de uma planta e dos produtos derivados pode ser abordada sob dois pontos de vista.

O primeiro considera a necessidade de comprovação de uma determinada atividade farmacológica ou toxicológica já atribuída à planta pela medicina popular. Nesse caso, algumas perguntas deverão ser respondidas:

- Qual ou quais ações farmacológicas são atribuídas à planta?
- Qual é a atividade farmacológica a ser explorada?
- Qual é o farmacógeno?
- Qual ou quais substâncias, se conhecidas, são responsáveis pela atividade farmacológica?
- Qual a concentração de substância ativa na planta e qual a sua potência?
- Ocorre a presença de substâncias tóxicas na fração de interesse?

Em relação a aspectos toxicológicos, a Portaria nº 116/1996 da Secretaria de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde do Brasil (Brasil, 1996) normatiza o estudo da toxicidade aguda e crônica dos produtos fitoterápicos. Essa medida deixa implícita a necessidade de realização de testes toxicológicos já em etapas anteriores ao desenvolvimento tecnológico do produto.

Sob o segundo ponto de vista, essa etapa revela-se indispensável no estabelecimento de estratégias de desenvolvimento tecnológico, no qual a validação do processo tecnológico exige a conservação da composição química e, sobretudo, da atividade farmacológica a ser explorada. Esse último aspecto adquire especial importância nos casos em que o monitoramento químico do processo é realizado considerando outras substâncias que não as responsáveis pelo efeito biológico, ou seja, através de marcadores químicos não-bioativos, ou quando diversas substâncias são responsáveis pela ação farmacológica.

Independentemente do ponto de vista considerado, o conhecimento dos aspectos de atividade biológica do vegetal é requisito essencial para a transformação da planta medicinal em produto fitoterápico (De Smet e Brouwers, 1997).

Estudos de desenvolvimento de metodologias analíticas

Os métodos analíticos permitem a avaliação da qualidade do produto fitoterápico, garantindo, assim, a constância de ação terapêutica e a segurança de utilização. Visto de forma pragmática, os métodos analíticos cumprem funções diferenciadas, descritas a seguir.

a) avaliação do teor de substância ou grupo de substâncias ativas e do perfil qualitativo dos constituintes químicos de interesse, presentes na matéria-prima vegetal, produtos intermediários e produto final.

A avaliação quantitativa, semi-quantitativa ou qualitativa envolve a utilização de métodos espectrofotométricos, cromatográficos, físicos, físico-químicos ou químicos. Nos casos em que os constituintes responsáveis pela atividade farmacológica são desconhecidos, a análise é realizada utilizando-se marcadores químicos, selecionados segundo a sua abun-

dância, facilidade de detecção e doseamento, preferencialmente aqueles com maior labilidade frente a uma determinada etapa tecnológica.

Quando o objetivo da análise é o controle de qualidade do produto final, registro do produto ou o monitoramento de processo tecnológico, as exigências analíticas incidentes devem considerar diversos fatores, como especificidade, exatidão, precisão e tempo de rotina analítica. Dessa maneira, para fins de controle de qualidade e de registro do produto fitoterápico junto ao Ministério da Saúde (Brasil, 2000), o método analítico deve ser validado para uma substância ou grupo de substâncias (Petry, 1999). Recomenda-se, também, que o mesmo possa ser utilizado em estudos de estabilidade, permitindo, inclusive, a detecção de produtos oriundos da degradação das substâncias ativas ou dos marcadores químicos.

Em relação aos processos tecnológicos, a sua inserção ocorre em nível de controle de qualidade das matérias primas, de produtos intermediários e finais, considerando as características específicas da matriz analisada. Nos casos de controle de processamento, os métodos selecionados para a avaliação das substâncias de interesse devem considerar o tempo da etapa de transformação, caracterizando-se, portanto, como método simples, rápido e robusto. Segundo as circunstâncias, o método pode assumir características qualitativas, semi-quantitativas ou quantitativas.

b) avaliação das características físicas e físico-químicas dos produtos tecnologicamente transformados.

Sua importância reside no fato de que essas características podem interferir sobre o perfil biofarmacêutico e estabilidade do produto fitoterápico. Constitui exemplo a velocidade de dissolução (cedência das substâncias ativas) de formas farmacêuticas sólidas, que condiciona o tempo necessário para ocorrer o início da absorção das substâncias ativas, bem como para o início da ação do medicamento, tempo de duração da ação e intervalo entre as doses (De Souza et al., 2001).

Além disso, a utilização de métodos analíticos visando à quantificação de substâncias ativas ou de referência bem como de aspectos relativos à forma farmacêutica são essenciais para a obtenção da homogeneidade dos lotes produzidos.

3. PRODUÇÃO E CONTROLE DE QUALIDADE DE FITOTERÁPICOS

A produção de fitoterápicos pressupõe que estudos de desenvolvimento tenham sido realizados anteriormente, estando os procedimentos e etapas de processamento devidamente estabelecidos. Cumprido esse quesito, a obtenção de produtos fitoterápicos, quer seja em escala oficial, hospitalar ou industrial,

requer conhecimentos e habilidades especiais dos três pontos do ciclo de produção de medicamentos (figura 1). Tais conhecimentos e habilidades devem relacionar-se objetivando a produção de produtos farmacêuticos adequados, de acordo com os conceitos atuais de qualidade. Por qualidade compreende-se o nível de satisfação do produtor e usuário do medicamento e o cumprimento de requisitos pré-fixados que conduzam à sua total adequabilidade ao fim a que se destina. Por conseguinte, a questão primeira a ser respondida diz respeito ao conhecimento do que se pretende fazer. Estabelecida essa meta, precisam ser fixadas normas escritas que permitam alcançar o objetivo traçado. Essas normas serão definidas de acordo com a escala de produção, sendo classificadas, hoje, como Boas Normas de Manipulação (France, 1989, Brasil, 2001a), para a escala oficial, e Boas Práticas de Fabricação e Controle de Produtos Farmacêuticos, para a escala industrial (Robert et al., 1979, Brasil, 2001b). O objetivo de tais normas é, acima de tudo, o alcance da qualidade total. Sob o termo qualidade total entendem-se todas as ações de planejamento, supervisão e gerenciamento da qualidade, compreendendo os insumos, o ciclo de produção, que contempla as ações de transformação (A) e os produtos intermediários (Pi) resultantes, e o produto final (PF), o medicamento. Para tanto, o conhecimento pleno desses itens é pré-requisito indispensável.

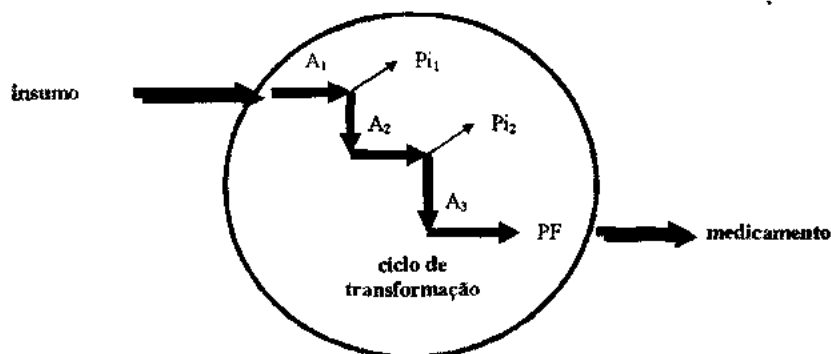


Figura 1. Ciclo de produção de medicamentos

Como insumo deve ser entendido o conjunto de bens e serviços que permite, através das ações de transformação, a obtenção do medicamento.

Desse modo, os insumos englobam não somente as matérias-primas, mas também os serviços de pessoal, as técnicas e metodologias de produção e controle e gerenciamento da qualidade, as áreas físicas, os equipamentos, os recursos financeiros e a filosofia empresarial voltada para a obtenção de produtos de qualidade adequada. Assim sendo, a qualidade total do produto depende, em primeira linha, da qualidade dos insumos.

Um dos pontos essenciais está relacionado com as habilidades dos recursos humanos, que devem possuir conhecimentos específicos do tipo de produto a ser obtido, sendo necessários, para tanto, conhecimentos sólidos sobre as matérias-primas, relacionados com a sua manipulação e conservação no ambiente da empresa. O domínio desses conhecimentos deve ser avaliado freqüentemente e ser adequado a toda a faixa hierárquica da empresa, desde os cargos de chefia gerencial, passando pelas chefias técnicas até o pessoal de apoio. A qualificação dos recursos humanos é um investimento empresarial, que deve envolver um programa específico, incluindo atividades internas e externas de formação e treinamento (Pereira, 2002).

As matérias-primas farmacêuticas, aqui classificadas como matérias-primas ativas e adjuvantes, por sua importância concreta, representam igualmente um fator considerável na obtenção de medicamentos com qualidade. É indispensável que o produtor conheça profundamente as matérias-primas empregadas a fim de estabelecer, para cada uma delas, uma monografia completa, que vai servir como documento básico para o estabelecimento da ficha de especificações para aquisição, dos protocolos de controle da qualidade, das instruções para sua transformação, entre outras.

As matérias-primas ativas de origem vegetal (quadro 1), devido a sua complexidade de composição, requerem cuidados especiais, tanto no armazenamento quanto durante a sua transformação.

De acordo com o tipo de matéria-prima, deverão ser delineados os testes de controle da qualidade e implementados cuidados de conservação e manipulação. Desse modo, para vegetais frescos, a primeira questão a ser levantada, diz respeito ao próximo passo de processamento, isto é, se o material sofrerá extração imediata ou não. É sabido que o teor de substâncias ativas e a carga microbiana são altamente influenciados pelo teor de água do material vegetal. Já para extratos líquidos, é necessário conhecer a composição do meio extrator e a concentração das substâncias ativas ou marcadoras, conquanto essas características vão determinar as decisões a serem tomadas nos próximos passos de transformação (tabela 1).

QUADRO I
Matérias-primas vegetais ativas

Planta
• Fresca • Seca • Inteira • Parte
Farmacógeno
• Fresco • Seco • Íntegro • Seccionado, moído ou rasurado
Derivados
• Sucos, exsudatos, etc. • Extratos totais • Extratos parciais • Extratos líquidos • Extratos fluídos • Tinturas • Extratos concentrados • Extratos semi-sólidos • Extratos secos • Produtos secos

A seleção dos adjuvantes deverá considerar, em primeiro lugar, as especificações adequadas para sua finalidade na formulação e no produto. O critério mínimo de qualidade é condicionado pelo seu emprego num medicamento, logo, similar à qualidade farmacopéica, adicionado das características do ciclo de processamento. Como exemplo pode ser citada a sacarose, com diversas aplicações na tecnologia de fitoterápicos. Independente de seu uso, deve estar conforme a monografia farmacopéica, que estipula limites de impurezas como cálcio, metais pesados, cloretos, sulfatos, sais insolúveis e açúcar invertido. Essa monografia, no entanto, não contempla especificações sobre a granulometria, indispensáveis ao diferenciar a qualidade do adjuvante mais apropriado para a obtenção de um xarope ou de um produto seco.

A especificação correta do material de embalagem primária pressupõe, por sua vez, o completo domínio do material a ser acondicionado e da composição dos continentes. A inércia intrínseca da embalagem, entendida como seu prazo de vida útil, deve ser conhecida. A sua reatividade, representada pela capacidade de adsorver substâncias, de ser permeável a gases ou vapores no sentido do ambiente ou do interior da embalagem ou de ceder componentes para o produto, pode comprometer a qualidade do produto final (tabela 2) (Neuwald e Scheel, 1969).

TABELA 1
Controle de qualidade de matérias-primas vegetais

Matéria-prima	Botânico macroscópico	Botânico microscópico	Partes estraulas	Perfil químico	Cromatografia	Microbiológico	Perda por dessecação	Teor de extrativos	Resíduo seco	Cinzas	Quantificação química	Contaminantes biológicos	Contaminantes químicos	Teor alcoólico	Granulometria
Planta/farmacógeno fresca íntegra/total															
Planta/farmacógeno seca íntegra/parte															
Farmacógeno fresco rasurado/moído/seccionado															
Farmacógeno seco rasurado/moído/seccionado															
Sucos/ exsudatos															
Extratos totais/parciais															
Extratos líquidos															
Tinturas															
Extratos concentrados															
Extratos semi-sólidos															
Extratos secos															
Produtos secos															

 Obrigatório
  Depende da composição do meio líquido

TABELA 2
Redução percentual da concentração de chamazuleno (Ch) e óleos voláteis (OV)
após 10 semanas de armazenamento em diferentes temperaturas
e umidades relativas ambientais (UR) (Neuwald e Scheel, 1969)

	20°C/60% UR		40°C/21% UR		40°C/92% UR	
MATERIAL	Ch	OV	Ch	OV	Ch	OV
Vidro	39	1	64	3	65	1
PVC	52	0	67	3	67	2
PEBD	77	11	92	29	90	13
PEAD	80	39	93	56	93	69
PP	79	1	92	27	93	15

PVC = cloreto de polivinila rígido; PEBD = polietileno de baixa densidade; PEAD = polietileno de alta densidade; PP = polipropileno

O próximo item a ser considerado diz respeito às técnicas de produção e de controle de qualidade. O estabelecimento de parâmetros que influenciam

a qualidade de uma operação de transformação baseia-se no total domínio da operação e na propriedade e exequibilidade de sua avaliação. Isso pressupõe que a sequência dos passos de transformação seja conhecida e, com isso, os objetivos a serem alcançados e os fatores que influenciam a eficiência de cada passo (Soares, 2002). Por conseguinte, as técnicas de controle de qualidade, que farão parte do controle de processamento (IPC = *In Process Control*), abrangendo o equipamento empregado, as condições de operação e as características do produto intermediário, assim como do produto final, serão desenvolvidas para atender à qualidade final desejada.

O planejamento da área física da empresa, atendendo à escala de produção, objetiva a adequação de cada área ao tipo de ação que será desenvolvida. De acordo com as normas existentes, certos setores deverão ser fisicamente separados, como por exemplo, o setor de controle da qualidade, o setor de armazenamento e o setor de produção. Mesmo dentro de um setor poderão existir divisões, como no setor produtivo, em que áreas que abrigam operações que emitem pó, deverão ser isoladas de outras áreas, nas quais esse contaminante deve ser evitado. O importante é planejar cada área a fim de otimizar o fluxo de materiais e pessoas, a execução adequada das operações, de evitar contaminações cruzadas entre produtos e a interferência entre procedimentos diferenciados. Na produção de produtos fitoterápicos, grande atenção deve ser dada ao planejamento da preservação da qualidade físico-química e microbiológica, quer da matéria-prima ativa, quer dos produtos intermediários e final.

A escolha correta dos equipamentos, de acordo com a escala de produção e os objetivos das operações de transformação, constitui só o primeiro passo no alcance da qualidade final estabelecida. A validação dos equipamentos, aqui entendida como o conjunto das ações que procuram verificar o correto funcionamento dos mesmos, e a manutenção preventiva complementam as atitudes necessárias de conformidade às boas práticas de produção.

A produção de medicamentos de origem vegetal com qualidade exige a existência de recursos financeiros adequados, que deverão igualmente ser gerenciados com qualidade, dentro de programações compatíveis com os objetivos propostos pela empresa.

Todas as medidas necessárias para atingir o nível de qualidade dependem, em primeira instância, da existência de uma filosofia empresarial clara, que seja do conhecimento de todos e praticadas em todos os níveis da empresa, da área gerencial administrativa, técnica e operacional, incluindo as pessoas com cargo de chefia até os funcionários. A empresa deve ser apta não somente à implementação dessa filosofia, mas também a verificar com frequência seu seguimento e de redirecioná-la, quando necessário.

A transformação de matérias-primas em produto fitoterápico é atingida numa ordem sequencial de ações de transformação (figura 1). A cada ação corresponde um produto intermediário. Aceitando-se que a qualidade do produto é a soma de qualidades parciais, assume-se como certo que a qualidade da

ação de transformação influenciará a qualidade do produto intermediário obtido, a qual, por sua vez, exercerá efeito sobre a próxima ação. É lógico, portanto, que o planejamento das ações de transformação afetará a qualidade do produto final. Por conseguinte, cada passo do processamento deverá ser visto sob dois pontos de vista. O primeiro, como uma atitude que faz parte de um conjunto de ações e, o segundo, como uma atitude que pode ser otimizada, objetivando melhoria da qualidade do produto intermediário obtido, seja pela redução dos custos do passo de produção ou de possíveis degradações no produto intermediário. Para tanto, é necessário traçar, concomitantemente, o esquema de pontos de decisão para cada passo tecnológico (figura 2).

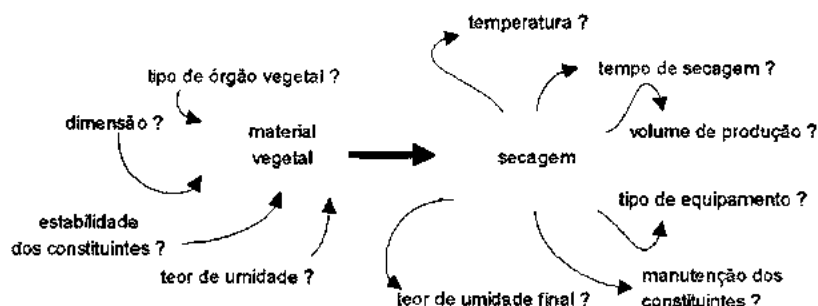


Figura 2. Planejamento da operação de secagem de um vegetal

As respostas aos questionamentos propostos conduz à montagem do Procedimento Operacional Padrão (POP), que vai fixar os parâmetros de operação a serem mantidos e determinar as técnicas de controle de qualidade a serem executados. No exemplo acima, três séries de perguntas devem ser formuladas. A primeira diz respeito ao equipamento, a segunda à operação em si e a terceira ao produto obtido (quadro 2).

A obtenção de formas farmacêuticas derivadas de matérias-primas vegetais necessita também de um planejamento inicial, com a finalidade de decidir qual a matéria-prima vegetal e quais os adjuvantes mais adequados, qual a sequência de ações de transformação e quais os pontos e metodologias de controle mais apropriados (De Souza et al., 2001).

Normalmente o produto intermediário que inicia o processamento da forma farmacêutica trata-se de um produto oriundo da transformação da planta ou do farmacógeno (Brasil, 2000). Dependendo da disponibilidade de mercado, a matéria-prima pode ser um extrato ou produto derivado, contendo adjuvantes farmacêuticos (figura 3).

Os controles de qualidade durante o ciclo de processamento e do produto final serão os aplicados usualmente para cada forma farmacêutica, como por exemplo, dureza, friabilidade e homogeneidade de peso para comprimi-

QUADRO 2

Questionamentos quanto à operação de secagem de materiais vegetais

Equipamento

- A estufa está limpa e sem resíduos de outros produtos ?
- Quando foi feita a última manutenção preventiva ?
- Os sistema de controle de temperatura e tempo foram validados ?
- O sistema de registro da temperatura foi validado e encontra-se operacional ?
- O manual de operação do aparelho está fixado e é a versão válida ?
- O equipamento está devidamente identificado para o produto a secar ?
- O equipamento está devidamente identificado para o lote do produto ?

Operação

- Os documentos do relatório de produção para esta etapa estão disponíveis ?
- O material vegetal foi manejado corretamente durante a operação quanto:
 - À quantidade ?
 - À distribuição ?
- A temperatura fixada foi mantida durante todo a operação ?
- O tempo de secagem foi mantido ?

Produto intermediário

- O produto apresenta a umidade desejada ?
- O produto apresenta homogeneidade em umidade ?

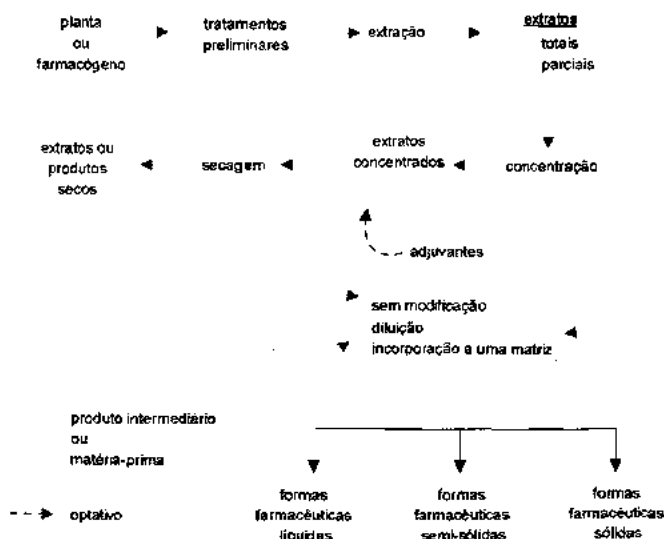


Figura 3. Esquema geral de preparação de formas farmacêuticas derivadas de plantas medicinais

dos. A manutenção dos compostos de interesse, sejam as substâncias ativas, sejam os marcadores, deverá ser assegurada em todo o processamento.

4. FORMAS FARMACÊUTICAS

A administração de agentes terapêuticos necessita da sua incorporação em uma forma farmacêutica, caracterizada normalmente pelo seu estado físico de apresentação, constituída de componentes farmacologicamente ativos e de adjuvantes farmacêuticos. A escolha da forma farmacêutica mais apropriada para um produto fitoterápico deve considerar a consecução dos seguintes objetivos:

a) manter a eficácia e a segurança do componente ativo e assegurar sua qualidade;

b) facilitar a aplicação do medicamento, através da via de administração mais apropriada;

c) permitir a administração de dose efetiva do componente ativo, com precisão adequada ao seu emprego seguro e sua adequação a casos específicos;

d) contornar problemas de estabilidade, através da adição de adjuvantes primários conservadores, tais como conservantes, com finalidade de manutenção da classe microbiológica, antioxidantes, que reduzem ou evitam reações de oxidação, tamponantes, para manter um valor de pH adequado, etc.;

e) adequar as propriedades da forma farmacêutica às necessidades fisiológicas da via de administração, o que pode ser obtido pelo emprego de adjuvantes primários adequadores fisiológicos, tais como, entre outros, de tonificantes, que conferem uma pressão osmótica fisiologicamente compatível com a via ocular ou via parenteral, e de hidrizes, que auxiliam o estabelecimento de um valor de pH aceitável ao local de aplicação;

f) direcionar a cedência dos componentes ativos, seja quanto ao local mais apropriado de absorção ou quanto ao perfil de liberação, e

g) aumentar o nível de aderência ao tratamento (*patient compliance*), através de adjuvantes secundários, tais como os adequadores organolépticos, que conferem características sensoriais (gustativas, olfativas e visuais) aceitáveis ao produto.

A obtenção de uma forma farmacêutica fitoterápica requer, portanto, já desde o momento de seu planejamento, a existência de conhecimentos suficientes para responder adequadamente a esses critérios, considerando ainda viabilidade técnica de sua produção, seja em nível oficial, hospitalar ou industrial.

4.1. Formas farmacêuticas sólidas

A forma farmacêutica mais simples de preparação e de maior difusão de produtos fitoterápicos é denominada espécie (do latim *species*). Consti-

tui-se da droga vegetal grosseiramente seccionada, moída ou rasurada (ver tabelas 4 e 5), normalmente na faixa de 4-6 mm ou de 1-2 mm, sempre superior a 0,315 mm, destinada à preparação extemporânea de infusos ou decocotos (chás). Espécies podem ser compostas por uma ou mais matérias-primas vegetais ativas adicionadas – ou não – de produtos vegetais adjuvantes organolépticos, que conferem sabor e aroma (France, 1995).

A qualidade desses produtos está ligada à qualidade das matérias-primas vegetais empregadas (tabela 1 e figura 3). Aspectos como identidade botânica, ausência de partes estranhas ao farmacógeno, teor de umidade, impurezas de origem biológica, podem comprometer a qualidade visual do produto (Farias et al., 1985).

O acondicionamento deve ser escolhido em função da manutenção da qualidade, em particular no que diz respeito à conservação do teor de umidade, que normalmente deve ser inferior a 12%, e à possibilidade de contaminação por microorganismos ou insetos. A individualização da dose em embalagens de papel especial (*sachets*) ou em envelopes plásticos termossoldados (*strip*) contribui para maior comodidade do usuário.

Pós são constituídos por partículas sólidas, de granulometria definida e, na maioria dos casos, destinada a preparações extemporâneas, tais como os pós constituídos por drogas vegetais moídas empregadas na obtenção de chás, normalmente por infusão, ou por extratos e/ou produtos secos para a dissolução, a quente ou a frio, em um líquido adequado (água, misturas hidroalcoólicas, óleos, etc.). A incorporação de matérias-primas vegetais líquidas a adjuvantes primários tecnológicos com alto poder de sorção, tais como sacarose, amido, lactose, dióxido de silício coloidal, representa uma alternativa tecnológica na obtenção de pós (Palma et al., 1999).

Pontos críticos dessas formas farmacêuticas estão relacionados com a reduzida granulometria e conseqüente aumento da superfície específica, evidenciando problemas de estabilidade ligados a esta característica, especialmente relacionados à sorção de umidade (Schiller et al., 2000; Couto et al., 2001). Além disso, é de suma importância o correto estabelecimento da faixa granulométrica mais apropriada ao uso, devendo-se evitar a existência de partículas fora da faixa especificada. A individualização da dose pode ser conseguida pelo acondicionamento em embalagens unitarizadoras, tais como envelopes de papel (*sachets*) ou envelopes de material composto termossoldados (alumínio/plástico).

O acondicionamento deve assegurar, ainda, a manutenção do teor de umidade preconizado para o produto e sua qualidade microbiológica, através da escolha de materiais de embalagem primária impermeáveis ao vapor d'água e com sistema de fechamento hermético.

Em geral, tais produtos são muito sensíveis à umidade e, para poderem ser conservados nas devidas condições, deverão ser acondicionados de ma-

neira a evitar a influência desse fator, podendo ser providos de substâncias excisadoras na embalagem primária.

Extratos secos são preparações obtidas pela eliminação total da fase líquida através de operação de secagem em pressão atmosférica ou reduzida, por liofilização ou ainda pela incorporação de solução extrativa em matriz sólida, com posterior secagem. Devem apresentar uma umidade residual máxima de 5% (Deutsches, 1992). A declaração dos extratos secos deve conter, além da denominação da droga, a mistura extrativa que deu origem ao produto, a relação ponderal da droga para uma parte de extrato, a concentração da substância marcadora e os adjuvantes presentes (Mouette, 1988). No quadro 3, a primeira declaração informa que o extrato é derivado dos folíolos de *Cassia senna* L. ou *Cassia angustifolia* Vahl (= *Senna alexandrina* Mill.), aceitas como drogas oficiais pela Farmacopéia Européia, no qual os componentes de interesse foram extraídos em etanol (*spir.* = *spiritus* = etanol), contendo 0,05 a 0,075 mg de senosídeos A e B por mg de extrato. Na segunda declaração, é possível saber que se trata de produto contendo de 0,16 a 0,26 mg de glicofrangulinas por mg de extrato seco, obtido por secagem de solução extrativa aquosa. Para o cálculo da quantidade de marcador químico de interesse, nesse caso, a classe responsável pela ação farmacológica deve ser levada em consideração a adição mencionada de adjuvante.

QUADRO 3

Exemplo de declaração de extratos secos

-
- A) *Extractum folium sennae spir. sicc.* (senosídeos A+B = 6 mg/80-120 mg)
sec. Ph.Eur.
- B) Extrato seco de *Rhamnus frangula* L. aquoso (5,5:1) (Glicofrangulinas calculadas como glicofrangulina A=1 mg/3-5 mg), dióxido de silício coloidal 25% (m/m)
-

Granulados são obtidos pela aglomeração de matérias-primas pulverizadas e de outros adjuvantes farmacêuticos através de emprego de aglutinantes. Dependendo das características da matéria-prima vegetal podem ser produzidos por via úmida, que exige a presença de um aglutinante líquido e de calor para sua secagem, ou por via seca (Couto et al., 2000).

A incorporação de matérias-primas vegetais líquidas, tais como óleos, óleos voláteis, sucos, soluções extrativas e extratos, na granulação por via úmida, é uma alternativa metodológica na obtenção de granulados.

Normalmente, são destinados a preparações extemporâneas, tais como soluções ou suspensões, preparadas a quente ou a frio. Nesses casos, a individualização da dose em embalagens unitarizadoras é altamente recomendável.

O acondicionamento deve ser escolhido considerando, principalmente, a manutenção das especificações de umidade do produto e da integridade da forma.

Cápsulas representam uma das formas farmacêuticas de maior aceitação. Por definição, é uma forma farmacêutica de dose individualizada, sendo constituída por um invólucro mais ou menos elástico e por um complexo farmacêutico que contém os constituintes ativos e os adjuvantes (Aíache et al., 1995). Os invólucros são obtidos a partir da gelatina, amido e derivados de celulose. Os complexos farmacêuticos podem ser produtos secos, geralmente pós ou granulados, semi-sólidos, tais como oleogéis tixotrópicos, ou líquidos não aquosos, como óleos ou extratos oleosos (Depraere, 2001).

Enquanto cápsulas moles de gelatina estão exclusivamente restritas à produção em escala industrial, o emprego de cápsulas de invólucro rígido de gelatina, de amido ou de derivados de celulose permite a obtenção dessa forma farmacêutica em escalas oficial, hospitalar e industrial.

Cuidados especiais devem ser tomados na produção de cápsulas com invólucros rígidos, notadamente com relação à compatibilidade química e físico-química entre o complexo farmacêutico e o material de constituição do invólucro (Chemtob, 1988). De modo geral, a presença de umidade excessiva no complexo pode conduzir ao amolecimento dos invólucros, passagem de constituintes através das paredes do invólucro e favorecimento de crescimento microbiano entre outros. O conhecimento da constituição química da matéria-prima vegetal é essencial, a fim de evitar interações indesejadas, como a reação entre os taninos e a gelatina.

A obtenção dessas formas farmacêuticas em escala oficial deve estar cercada de atenções redobradas (Vidal-Tessier, 1988). Técnicas de encapsulamento por nivelamento têm obrigatoriamente de atender a metodologias bem especificadas, considerando a dose da matéria-prima vegetal, sua densidade, estabilidade de empacotamento e o volume da cápsula a ser empregada. Matérias-primas vegetais ou produtos fitoterápicos intermediários de baixa dosagem devem ser evitados ou, obrigatoriamente, submetidos a rigoroso controle de qualidade quanto à homogeneidade de distribuição dos constituintes ativos no complexo farmacêutico e à manutenção do peso dos produtos acabados.

O emprego de pós de plantas, como material de enchimento de cápsulas, por sua vez, deve ser criteriosamente avaliado. Por um lado, a estabilidade destes produtos é limitada (Depraere, 2001), a dose terapêutica dificilmente pode ser alcançada com a administração de uma única unidade, o que compromete a adesão ao tratamento, a variabilidade da composição das substâncias de interesse é de difícil manejo e, finalmente, existem raras evidências de eficácia destes produtos (Grontved e Hentzer, 1986; Fischer-Rasmussen et al., 1990; De Smet e Brouwers, 1997).

A preparação de cápsulas com invólucros rígidos a partir de extratos secos apresenta, geralmente, dificuldades relacionadas com a baixa propriedade de fluxo, com a reduzida densidade e a elevada higroscopicidade dos mesmos (Heberlé, 2000).

O acondicionamento coletivo, em frascos de vidro ou plástico, ou individualizado, em embalagens alveolares (*blister*) ou envelopes termossoldados (*strip*), deve objetivar, especialmente, a proteção da forma farmacêutica da ação da umidade ambiental e sua proteção mecânica.

Comprimidos são formas farmacêuticas que contêm a dose de componentes ativos individualizada na própria forma, obtidas pela compactação de matérias-primas sólidas. Representam, portanto, a forma farmacêutica mais compacta, com um elevado grau de organização das partículas. Face a isso e às diversas variáveis de fabricação que influem na sua qualidade, sua produção está restrita às escalas de produção hospitalar e industrial, que possuem condições de avaliação de características como uniformidade de conteúdo, dureza, desintegração e cedência entre outras.

Como matérias-primas para a produção de comprimidos fitoterápicos podem ser empregados pós e granulados (Couto, 2000). Normalmente são indicados para a administração oral.

Comprimidos requerem elevados cuidados de produção, devido às propriedades higroscópicas das matérias-primas de origem vegetal, assim como às suas parcas qualidades compressionais (Petrovick et al., 1995; González Ortega e Schmidt, 1995; Linden, 1998; Rocksloh et al., 1999; Soares, 2002). A cedência das substâncias ativas e, com isso, sua biodisponibilidade, pode ser fortemente influenciada pelos adjuvantes, quer pela variação da sua qualidade ou quantidade na formulação (Crippa, 1978; Graf e Bornkessel, 1978; List e Schmidt, 1989; De Souza et al., 2001).

O envase de comprimidos em embalagens coletivas, tais como frascos de vidro ou plástico, ou em embalagens individualizadoras, tais como embalagens alveolares ou envelopes termossoldados, deve atender a pré-requisitos de proteção da forma farmacêutica da ação da umidade ambiental e da integridade mecânica da forma, evitando fenômenos de friabilidade e de perda de estrutura (De Souza, 1999).

Comprimidos revestidos abrangem as *drágeas*, caracterizadas pelo revestimento em camadas múltiplas, de composições heterogêneas, constituído principalmente por sacarose, ou *comprimidos peliculados* (*film tablets*) em que o revestimento é de composição homogênea, de baixa espessura, formado por agentes filmógenos poliméricos sintéticos. Apresentam como grande vantagem a proteção dos constituintes ativos vegetais da ação de agentes ambientais, tais como a umidade, ou fisiológico, como o pH ou enzimas do trato gastrointestinal. Adicionalmente evitam efeitos indesejados dos constituintes ativos vegetais sobre o sistema fisiológico, tais como o impacto gástrico, ou possibilitam o encobrimento de defeitos organolépticos, tais como sabor, odor ou cor. Essa forma farmacêutica permite também a modulação do perfil de liberação e o direcionamento da cedência quanto ao local de absorção (Diaz et al., 1996; Jekö et al., 1999).

Os principais defeitos de qualidade estão relacionados com o núcleo, produto intermediário obtido por compressão, que contém os constituintes ativos. Núcleos com teor de umidade elevado podem conduzir ao aparecimento de ruptura do comprimido revestido ou de manchas superficiais, causadas pela migração de compostos do interior para as camadas mais externas. A falta de cuidados durante as operações de revestimento, por sua vez, pode comprometer a qualidade do núcleo, quer pelo insuficiente isolamento das demais camadas de revestimento ou por solução de continuidade das camadas de revestimento (Burger e Dialer, 1981).

O aspecto brilhante e colorido desses produtos podem incitar ao seu consumo indevido por crianças. Por isso, a escolha do material de acondicionamento deve prever, além da proteção contra a ação da umidade externa e efeitos mecânicos, a segurança do usuário, através de sistemas que dificultem sua ingestão acidental.

4.2. Formas farmacêuticas semi-sólidas

Extratos espessos são preparações viscosas em temperatura ambiente, obtidas através da concentração de soluções extrativas até o ponto de formar uma massa maleável contendo quantidades variáveis de umidade residual (List e Schmidt, 1989). A Farmacopéia Brasileira classifica os extratos moles como preparações semi-sólidas obtidas por evaporação parcial de extratos de drogas vegetais, adicionadas – ou não – de adjuvantes (Farmacopéia, 1988).

Eles podem ter sua concentração ajustada para uma substância ativa definida através da adição de quantidades calculadas de adjuvantes como, por exemplo, lactose. Não é permitido o aumento da concentração das substâncias ativas pela incorporação de substâncias isoladas ou misturas, mesmo estando as mesmas presentes no extrato.

Esse tipo de extrato está quase que completamente substituído por extratos secos, em razão de sua baixa estabilidade, dificuldade de manuseio e suscetibilidade ao crescimento microbiano (List e Schmidt, 1989).

Formas farmacêuticas plásticas, tais como *pomadas* ou *cremes de consistência elevada*, são destinadas à aplicação sobre a pele. As matérias-primas vegetais incorporadas abrangem desde as sólidas, como extratos secos e pós, até as líquidas, como soluções extrativas nos mais diversos sistemas solventes (Petrovick e Knorst, 1991).

De acordo com as características dos componentes de interesse da matéria-prima vegetal empregada, a mesma será suspensa ou dissolvida na fase aquosa ou oleosa, que constituirão o produto ou, então, incorporada à base. A inclusão de extratos líquidos à base pode trazer problemas de diminuição da viscosidade com conseqüente aumento da espalhabilidade e tendências à instabilidade físico-química (Knorst, 1991). Já a incorporação de extratos secos à base causa

um aumento da consistência e uma diminuição da espalhabilidade, produzindo também uma elevação do ponto de fluidez (De Paula et al., 1998).

Emulsões contendo extratos vegetais são obtidas através das metodologias usuais de emulsificação, através da dissolução ou suspensão de extratos líquidos, concentrados ou secos na fase mais adequada. Cuidados especiais devem ser tomados, já que extratos totais podem apresentar atividade tensoativa, causada por compostos anfifílicos, tais como taninos, saponinas e polifenóis. A presença dessas substâncias pode causar quebra da emulsão ou até inversão de fase. O emprego de emulsionantes iônicos deve ser evitado ao máximo, devido à sua reatividade.

Supositórios podem ser preparados pela incorporação por dissolução, emulsão ou suspensão de extratos líquidos, concentrados ou secos na massa da base. Preferentemente, a incorporação é feita quando a massa da base alcançar uma temperatura levemente superior à de sua solidificação.

Suspensões integrais de plantas frescas (SIPF) são obtidas pela moagem fina de plantas frescas congeladas a -50°C , suspensas em etanol a 36° , em concentrações que variam de 30 a 35% (m/V) da droga (Roubaudi, 1988). São destinadas à administração por via oral ou cutânea, geralmente, após diluição em água.

4.3. Formas farmacêuticas líquidas

O termo *suco* é utilizado para uma ampla variedade de preparações fitoterápicas aquosas obtidas por diversos métodos. Sucos expressos de frutas secas ácidas diferem na natureza e no método de preparação de sucos concentrados, que são obtidos por concentração cuidadosa de extratos aquosos (List e Schmidt, 1989). Devido ao meio aquoso, há necessidade de conservação, especialmente do ponto de vista microbiológico. A escolha do adjuvante conservante, vai depender do pH do preparado, da solubilidade do conservante, da faixa de pH em que o conservante mantém sua atividade, do espectro de ação desejado e da via de administração almejada.

Extratos compreendem, modernamente, um conceito vasto de produtos fitoterápicos. Entendidos sob ponto de vista amplo podem referir-se a extratos líquidos, moles, espessos ou secos. No primeiro caso, consideram-se todos aqueles produtos obtidos a partir de matérias-primas vegetais, através de várias metodologias de extração ou dissolução, através do emprego de misturas solventes adequadas, em qualquer relação de concentração entre a matéria-prima vegetal e o meio líquido, com o objetivo de retirar, com maior ou menor especificidade, determinados componentes. Através dessa ótica, são preparadas soluções extrativas em meio aquoso, hidroetanólico, hidropoligólico ou oleosos (Schilcher, 1997). Sob ponto de vista restrito, consideram-se as soluções extrativas de composição e modo de preparação fixadas em compêndios oficiais.

Extratos líquidos podem ser também preparados pela reconstituição de produtos secos ou concentrados (figura 4). Inicialmente deve ser conhecida a relação droga: extrato de partida, que descreve a concentração ponderal da matéria-prima vegetal no produto a recompor. Assim, um produto 5: 1 indica que uma parte do extrato representa cinco partes da matéria-prima vegetal original (quadro 3). Embora essa declaração devesse ser obrigatória, nem sempre está presente nas especificações do produto. Nesse caso, a busca na literatura, especialmente se o produto estiver inscrito em uma determinada farmacopéia, indicará a concentração usual. O próximo passo é o da seleção da mistura solvente, que igualmente deveria estar declarada. Sendo um produto inscrito em alguma farmacopéia ou tendo seu modo de preparação descrito em código oficial ou outra literatura, sua reconstituição fica facilitada. Em não existindo referências, a solução é testar sua dissolução em misturas solventes com diversas concentrações de etanol. Problemas de reconstituição completa podem ser contornados pela adição de adjuvantes, seja pela umectação com agente tensoativo, especialmente os não-iônicos, ou pela acidificação ou alcalinização da mistura hidroetanólica que apresentou melhores resultados.

A escolha do material de acondicionamento influi na qualidade do extrato, já que as interações entre o conteúdo e o continente são mais intensas para as formas farmacêuticas líquidas. Especialmente extratos hidroalcoólicos, face ao largo espectro de polaridade das substâncias extraídas, são propensos à perda de constituintes, quando envasados em frascos plásticos (Neuwald e Scheel, 1969).

Extratos aquosos devem ser preparados para uso imediato, devi-

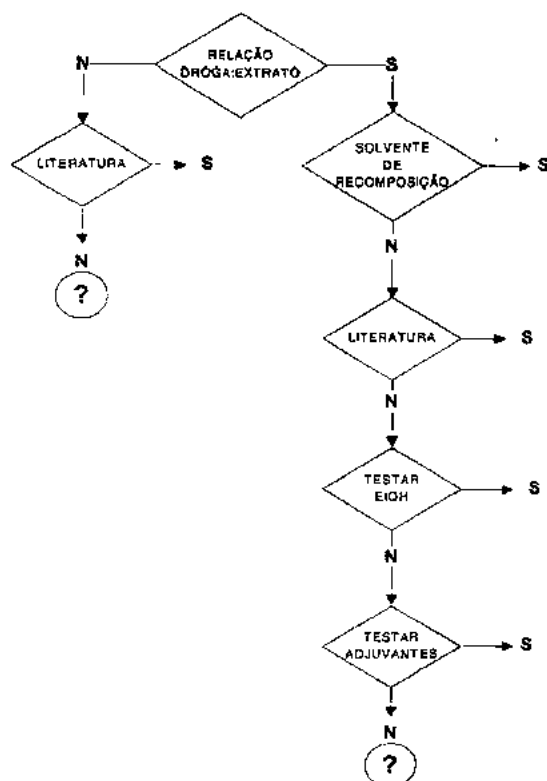


Figura 4. Esquema de decisões na reconstituição de extratos

do à sua susceptibilidade de degradação e de contaminação microbiana, inerente à presença de água como solvente. O emprego de conservantes pode contornar o segundo problema, mas a adição de tamponantes não assegura a estabilização de reações de hidrólise de componentes. A utilização de drogas estabilizadas, em que a ação de enzimas existentes no interior das células vegetais, como hidrolases, peroxidases ou polimerases foi excluída, não evita, necessariamente, a possibilidade de decomposição de constituintes pelo meio de extração ou de reconstituição.

Alcoolatos ou *alcoholaturas* são preparados de plantas frescas, excepcionalmente de plantas secas ou de drogas, por maceração em temperatura ambiente com etanol. Essa metodologia de preparação é geralmente usada para matérias-primas vegetais em que os constituintes a extrair podem ser perdidos ou degradados em operação de secagem ou concentração.

Tinturas são definidas como soluções extrativas alcoólicas ou hidroalcoólicas preparadas a partir de matérias-primas vegetais ou ainda como extratos de plantas preparados com etanol, misturas hidroalcoólicas em várias concentrações, éter ou misturas destes, de tal modo que uma parte da droga é extraída com mais de duas partes, mas menos que dez partes de líquido extrator, isto é 10 ml de tintura devem corresponder aos componentes solúveis de 1 g de droga seca (Farmacopéia, 1988). Soluções obtidas pela diluição de extratos secos ou concentrados em misturas hidroetanólicas de concentrações adequadas são consideradas tinturas (Farmacopéia, 1988; List e Schmidt, 1989). As tinturas são classificadas em simples e compostas, conforme preparadas com uma ou mais matérias-primas vegetais (Farmacopéia, 1988).

Extratos fluidos, como tinturas, são preparações líquidas e diferenciam-se destas por serem mais concentradas (List e Schmidt, 1989). Normalmente apresentam misturas hidroetanólicas como solvente, em que cada mililitro de extrato contém os constituintes ativos correspondentes a 1 g da droga (Farmacopéia, 1988; The United, 1995). Podem ser, ainda, obtidos através da dissolução do extrato seco ou diluição do extrato concentrado correspondente (Farmacopéia, 1988).

Elixires são preparações líquidas, límpidas, hidroalcoólicas, apresentando teor etanólico na faixa de 20 a 50% (V/V). São preparados por dissolução ou diluição simples de extratos secos ou concentrados.

Xaropes são soluções aquosas que apresentam alta concentração de sacarose, normalmente superiores a 40% (m/V). Podem ser obtidos por dissolução de extratos líquidos ou concentrados ou através da extração de drogas vegetais, por percolação ou maceração, a frio ou a quente, em que o meio extrator é constituído, normalmente por xarope simples. A adição de glicose ao extrato pode reduzir fenômenos de cristalização da sacarose em baixas temperaturas de armazenamento. A incorporação de extratos líquidos pode reduzir a viscosidade

do xarope, a qual, por sua vez, é corrigida pelo acréscimo de sacarose ou pelo uso de agentes espessantes, tais como derivados de celulose.

Xaropes também podem ser obtidos por reconstituição extemporâneas de pós ou granulados obtidos pela secagem de extratos vegetais líquidos sobre sacarose.

Devido à presença de sacarose, xaropes não são indicados para pacientes diabéticos e em casos de diarreia. O uso continuado desses produtos em crianças, devido ao efeito cariogênico da sacarose, não é recomendado. Essas limitações estão conduzindo ao desenvolvimento de xaropes artificiais, compostos de adjuvantes espessantes e edulcorantes apropriados àqueles pacientes (Petrovick et al., 1993).

5. OPERAÇÕES DE TRANSFORMAÇÃO

A transformação tecnológica do material vegetal para um produto tecnicamente elaborado, que pode ser intermediário ou acabado, implica a utilização de operações de transformação tecnológica. Essas operações se inserem na produção de forma sequencial, constituindo um ciclo de processamento tecnológico coerente, cujo produto final é o *fitoterápico* (figura 1).

As operações de transformação podem ser classificadas, de forma geral, em (List e Schmidt, 1989, Le Hir, 1996):

- 1) operações preliminares, que incluem a divisão e classificação;
- 2) operações de extração;
- 3) operações de purificação;
- 4) operações de concentração;
- 5) operações de secagem.

A complexidade do processo e o número de operações envolvidas estão determinados pelo grau de transformação tecnológica requerido, que pode ser mínimo, como é o caso de pós e drogas rasuradas destinados à preparação de chás; ou bem maior, quando o objetivo é obter frações purificadas ou formas sólidas revestidas. Para cada uma das etapas do processo tecnológico, a escolha de uma operação específica é determinada pelas características físicas e físico-químicas do produto a ser obtido, pela natureza da matéria-prima a ser transformada e pelo volume de produção exigido. Se o resultado da operação é um produto intermediário, as características tecnológicas deste devem facilitar a obtenção de outro tecnologicamente mais elaborado, que pode ser – ou não – o produto acabado. Se a droga vegetal é moída em função de uma extração subsequente, por exemplo, o tamanho de partícula requerido é diferente daquele necessário na preparação de chás ou quando a finalidade é a embalagem e armazenagem da matéria-prima. Como exigência geral, no caso do produto acabado, é essencial que o conjunto de operações de transformação utilizadas assegure a conservação das propriedades químicas e farmacológicas

originais, assim como a sua eficácia, segurança e a reprodutibilidade do efeito terapêutico.

A garantia da qualidade do material vegetal a ser processado é fundamental na preparação de fitoterápicos, devendo considerar-se aspectos botânicos, químicos, farmacológicos e de pureza. Por esse motivo, além do teor de substância ativa e intensidade das atividades farmacológica e toxicológica, outros aspectos de qualidade a serem avaliados são a carga microbiana, contaminação química por metais pesados, pesticidas e outros defensivos agrícolas, e presença de matéria estranha, como terra, areia, partes vegetais, insetos e pequenos vertebrados ou de produtos oriundos destes (tabela 1) (Harnischfeger, 1985; List e Schmidt, 1989; Schmidt, 1997).

A variedade de operações tecnológicas utilizadas na produção de fitoterápicos é bastante grande e, por essa razão, é inevitável uma abordagem limitada àquelas mais importantes. Tratados tecnológicos mais detalhados são disponíveis (Schaefer, 1972; Voeste e Wesp, 1972; Vogelpohl e Schlünder, 1972; Bartholomé et al., 1988; List e Schmidt, 1989; Liebermann et al., 1990; Le Hir, 1996; Voigt, 2000).

5.1. Divisão e classificação

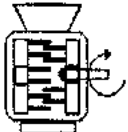
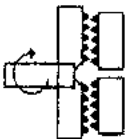
As operações de *divisão* são sinônimo de redução de tamanho de partícula, a qual é obtida mediante aplicação de forças mecânicas de *concussão* (impacto), *atrito*, *corte* ou combinação delas (Liebermann et al., 1990). Essa operação tem finalidades tecnológicas específicas, como facilitar o manuseio, transporte, embalagem e armazenagem, assim como a mistura e extração da matéria-prima. Geralmente, o corte ou moagem grosseira assumem um caráter preliminar, deixando-se a redução mais fina do tamanho de partícula para uma etapa seguinte. Para fins de armazenagem, por exemplo, é usual que a planta inteira, partes aéreas, raízes, folhas e caule sejam reduzidos a um tamanho de partícula grosseiro. A redução definitiva de tamanho de partícula somente ocorrerá no momento prévio às fases de extração ou de mistura. No caso de sementes e de outros farmacógenos ricos em óleos essenciais, como flores, frutos, cascas e lenhos, recomenda-se que os mesmos sejam armazenados intatos ou na forma mais intata possível, procedendo a moagem em momento imediatamente anterior à extração.

Na escolha do tipo de moinho devem ser considerados três aspectos principais: o princípio de funcionamento do mesmo, as características do material vegetal, como dureza, elasticidade e friabilidade, e as propriedades químicas dos constituintes de interesse (tabela 3) (List e Schmidt, 1989; Lantz, 1990). O desconhecimento desses aspectos pode levar à obtenção de pós com propriedades tecnológicas inadequadas ou à perda de substâncias voláteis ou termolábeis. Nesse sentido, cabe lembrar que a moagem é uma

operação tipicamente exotérmica, o que obriga a ter cuidados diferenciados quando se trata de drogas contendo tais substâncias.

TABELA 3

Características e exemplos de emprego dos tipos de moinhos mais utilizados

Tipo de moinho	Características e emprego
 Pinos	Princípio de concussão, em sistema contínuo. Velocidade de rotação: 40 a 110 m s⁻¹. Adequado para pulverização de material duro, quebradiço, como cascas e raízes, assim como de folhas. Não se recomenda para sementes, flores e frutos.
 Jato de ar	Princípio de concussão, em sistema contínuo. Velocidade de rotação: 50 a 70 m s⁻¹. Adequado para pulverização de material duro, quebradiço, como cascas e raízes. Não é adequado para sementes, flores e frutos.
 Discos	Princípio de atrito, em sistema contínuo. Velocidade de rotação: 5 a 16 m s⁻¹. Adequado para extratos secos, frutos dessecados e sementes. Aplicado a materiais duros, quebradiços e friáveis, leva à obtenção de pós muito finos.
 Martelos	Princípio de concussão, em sistema contínuo ou descontínuo. Velocidade de rotação: 40 a 90 m s⁻¹. Em sistema contínuo, é adequado para a moagem grosseira de folhas, cascas, raízes e ervas. Materiais friáveis e quebradiços produzem pó fino em excesso.
 Facas	Princípio de corte, em sistema contínuo. Velocidade de rotação: 5 a 18 m s⁻¹. Adequado para materiais secos, moles, não friáveis ou quebradiços, como folhas, flores, ervas e rizomas. Aplicado a sementes e frutos, pode levar a uma redução excessiva do tamanho de partícula.

Segundo as características físicas, é possível diferenciar seis tipos de drogas vegetais:

- folhas de fratura fácil: beladona, digitalis, melissa e sene;
- folhas duras e de fratura fácil: uva-ursi, boldo e espinheira-santa;
- folhas e flores moles e fibrosas: altéia, malva, sálvia, camomila, calêndula;

- d) ervas e partes aéreas com elevada proporção de galhos: hipérico e maracujá;
- e) drogas duras e quebradiças: cavalinha, erva-mate, alecrim, ruibarbo, frângula;
- f) sementes, frutos e outras drogas sem estrutura celular.

Para fins de extração e mistura, são recomendados diferentes níveis de redução de tamanho de partícula, os quais dependem da natureza da droga vegetal (tabela 4):

TABELA 4

Nível de redução de partícula recomendada segundo o tipo de droga vegetal

Classificação	Diâmetro médio de partícula	Exemplos
Corte grosso	5 - 10 mm	extração de folhas, flores e ervas
Corte semi-fino	0,5 - 5 mm	extração de lenhos, cascas, raízes, rizomas e sementes
Corte fino	50 - 500 μ m	extração de alcalóides
Pó	1 - 50 μ m	mistura de pós e encapsulamento

A classificação dos pós é feita segundo critérios farmacopéicos. Com essa finalidade, a Farmacopéia Brasileira (Farmacopéia, 1988) estabelece um sistema de classificação baseado nos tamises oficiais, o qual é diferente em relação a outras Farmacopéias, como a Norte-americana, Alemã e Suíça (tabela 5). De acordo com a Farmacopéia consultada, as diferenças encontradas entre os sistemas de classificação residem, principalmente, no número de categorias e na denominação das mesmas segundo critérios estabelecidos para cada caso. A Farmacopéia Brasileira, por exemplo, estabelece cinco categorias diferentes, enquanto que a Alemã (Deutsches, 1992) diferencia oito categorias. Da mesma forma, os critérios de quantificação das características qualitativas como "grosso", "moderadamente fino" e "fino" também podem ser diferentes. A denominação "pó moderadamente fino" da Farmacopéia Brasileira (Farmacopéia, 1988) não consta na Farmacopéia Norte-americana (The United, 1995) e não é exatamente igual ao "*mittelfein gepulvert*" da Farmacopéia Alemã (Deutsches, 1992). Outra divergência está no fato da maioria das Farmacopéias estabelecerem os mesmos critérios de classificação para pós de origem vegetal, animal ou mineral. A Farmacopéia Norte-americana (The United, 1995), pelo contrário, estabelece uma classificação própria para drogas vegetais e animais, diferente da preconizada para outros produtos químicos.

TABELA 5

Classificação dos pós vegetais segundo as Farmacopéias do Brasil (F. Bras. IV)
e dos Estados Unidos (USP 23)

F. Bras. 4		USP 23	
Denominação	Critério	Denominação	Critério
Grosso (2000/355)	100% menor que 2000 μm e máx. 40% < que 355 μm	Muito grosso	100% menor que 2380 μm e 20% $\leq$ que 250 μm
Moderadamente grosso (710/250)	100% menor que 710 μm e máx. 40% < que 250 μm	Grosso	100% menor que 840 μm e 40% $\leq$ que 250 μm
Moderadamente fino (355/180)	100% menor que 355 μm e máx. 40% < que 180 μm	Moderadamente grosso	100% menor que 420 μm e 40% $\leq$ que 177 μm
Fino (180)	100% menor que 180 μm	Fino	100% menor que 250 μm e 40% $\leq$ que 149 μm
Muito fino (125)	100% menor que 125 μm	Muito fino	100% menor que 177 μm

5.2. Operações extrativas

O termo *extração* significa retirar, da forma mais seletiva e completa possível, as substâncias ou fração ativa contida na droga vegetal, utilizando, para isso, um líquido ou mistura de líquidos tecnologicamente apropriados e toxicologicamente seguros. O produto resultante dessa extração sólido-líquido é denominado de *solução extrativa*, que não deve ser confundida com o produto de uma extração líquido-líquido, quando são obtidas frações enriquecidas ou substâncias purificadas.

Uma das formas mais aceitas de classificar as operações de extração é segundo a sua eficiência, permitindo reconhecer dois tipos: operações de extração parcial (extração sem esgotamento) e operações de extração exaustiva, que permitem o esgotamento da matéria-prima. A maceração e suas variações, assim como a turbo-extração, pertencem ao primeiro grupo, enquanto que a percolação, a extração em contra-corrente, extração em carrossel e a extração com gases supercríticos pertencem ao segundo grupo.

5.2.1. Principais líquidos extratores

Apesar da ampla variedade de substâncias líquidas conhecidas, são poucas as utilizadas na extração de drogas vegetais (tabela 6) (Stoye, 1978; List e Schmidt, 1989). Essa limitação de uso é devida a três aspectos principais: *propriedades extrativas*, *adequação tecnológica* e *inocuidade fisiológica*.

As *propriedades extrativas* compreendem a eficiência e seletividade com que o líquido extrator dissolve, à temperatura ambiente, uma substância de interesse e que dependem sobretudo dos *parâmetros de solubilidade* do solvente e do soluto (Martin e Bustamante, 1993). Os líquidos extratores mais utilizados são os hidrocarbonetos alifáticos (éter de petróleo e o n-

hexano), hidrocarbonetos halogenados (clorofórmio¹ e diclorometano), álcoois (etanol e metanol²), cetonas (acetona e metiletilcetona), ácido acético, acetato de etila, éter etílico e, naturalmente, água (tabela 6) (Stoye, 1978, List e Schmidt, 1989).

A água é, sem dúvida, um dos líquidos extratores mais importantes, sendo utilizada na extração de substâncias hidrofílicas, como aminoácidos, açúcares, alcalóides na forma de sal, saponinas, heterosídeos flavonóides e mucilagens.

Outro aspecto limitante na escolha de solventes para a extração é a sua *adequação tecnológica*, a qual diz respeito, principalmente, à facilidade de sua eliminação da solução extrativa ou do produto final. A maior ou menor facilidade de eliminação depende do ponto de ebulição, ocorrência de misturas azeotrópicas, riscos de inflamabilidade ou explosão, corrosão e eventual formação de peróxidos (List e Schmidt, 1989; Werner, 1993). Nos casos de separação do solvente por filtração sobre membrana de ultrafiltração ou de osmose inversa, aspectos como tamanho molecular e afinidade pelo material filtrante, tanto do soluto como do solvente, são fatores determinantes da viabilidade de utilização da técnica (Bassani, 1990). O terceiro motivo de limitação é a *toxicidade* do líquido extrator para o ser humano. Caso o líquido seja tóxico, como metanol e diclorometano, o emprego deste fica condicionado à sua posterior eliminação do produto final, obedecendo aos limites máximos de concentração permitidos. O emprego do clorofórmio é, em qualquer caso, não recomendável. Em nível de produção, substâncias com um valor de CMAT³ elevado podem vir a ser utilizadas, desde que sejam tomadas as devidas medidas de segurança.

¹ Pela sua maior toxicidade e impacto ambiental, o clorofórmio tem sido substituído pelo diclorometano. A tendência mundial é a do não-emprego de solventes clorados.

² Pela toxicidade sobre o nervo óptico, seu emprego é restrito a sistemas fechados, com adoção de medidas preventivas de segurança.

³ CMAT: concentração máxima permitida em ambiente de trabalho, também denominada MAK (Maximale Arbeitsplatzkonzentration). É expressa em mL ou mg de substância por m³ de ar (Bernabei, 1991).

TABELA 6
Principais características dos líquidos utilizados na extração de drogas vegetais

Nome químico	Massa molecular	p.f. (°C)	Densidade D ₂₀ (kg/L)	Exemplos de utilização
éter de petróleo	mistura de hidrocarbonetos alifáticos	30 a 50	aprox. 0,6	Extração de substâncias altamente lipofílicas, lipídeos e óleos voláteis. Imiscíveis com água e misturas hidroalcolílicas
n-hexano	86,17	68,7	0,659	
diclorometano	84,94	39,9	1,335	Extração de substâncias lipofílicas, óleos fixos, ceras, agliconas, saponinas, alcalóides na forma de base livre. Imiscíveis com água.
éter etílico	74,12	34,5	0,719	
etanol	46,09	78,3	0,789	Extração de agliconas, ceras, saponinas, iridóides e sesquiterpenos. Miscível com água em todas as proporções. O etanol forma azeótropo com água. O metanol, não.
metanol	32,04	64,5	0,796	
acetona	58,09	56,2	0,791	Agliconas, ceras, saponinas, iridóides, sesquiterpenos. A acetona é miscível com água em todas as proporções. A MEC, não. A MEC forma azeótropo com a água. A acetona, não.
metililcetona (MEC)	72,10	79,5	0,805	
acetato de etila	74,12	34,5	0,719	Agliconas, ceras, saponinas, iridóides, sesquiterpenos. Imiscível com água. Características similares à MEC.

5.2.2. Maceração e operações derivadas

Maceração designa a operação na qual a extração da matéria-prima vegetal é realizada em recipiente fechado, em diversas temperaturas, durante um período prolongado (horas ou dias), sob agitação ocasional e sem renovação do líquido extrator. Pela sua natureza, não conduz ao esgotamento da matéria-prima vegetal, seja devido à saturação do líquido extrator ou ao estabelecimento de um equilíbrio difusional entre o meio extrator e o interior da célula (Voigt, 2000). Diversas variações conhecidas desta operação objetivam, essencialmente, o aumento da eficiência de extração, entre elas:

- *digestão*: consiste na maceração, realizada em sistema aquecido a 40 – 60°C;
- *maceração dinâmica*: maceração feita sob agitação mecânica constante;
- *remaceração*: quando a operação é repetida utilizando o mesmo material vegetal, renovando-se apenas o líquido extrator.

Os principais fatores que influenciam a eficiência de maceração estão vinculados ao material vegetal, ao líquido ou misturas de líquidos extratores e às condições do sistema, em conjunto (List e Schmidt, 1989).

- *Fatores vinculados ao material vegetal*: quantidade, natureza, teor de umidade, tamanho de partícula, capacidade de intumescimento;
- *fatores vinculados ao líquido extrator*: seletividade e quantidade;
- *fatores vinculados ao sistema*: proporção droga:líquido extrator, temperatura, agitação, pH, tempo de extração.

As drogas vegetais mais indicadas para serem extraídas por maceração são aquelas ricas em substâncias ativas que não apresentam uma estrutura celular, como gomas, resinas e alginatos. Na preparação de tinturas-mães em homeopatia ou de tinturas officinais, os líquidos extratores preferidos são o etanol e as soluções hidroetanólicas. Líquidos muito voláteis são raramente utilizados, não se recomendando, por outro lado, o emprego de água ou de misturas hidroalcoólicas com concentrações etanólicas inferiores a 20%, dadas as circunstâncias favoráveis à proliferação microbiana.

5.2.3. Percolação e operações afins

Este grupo de operações tem como característica comum a extração exaustiva das substâncias ativas. Na percolação, a droga vegetal moída é colocada em um recipiente cônico ou cilíndrico (*percolador*), de vidro ou de metal, através do qual é feito passar o líquido extrator (figura 5). O procedimento usual de *percolação*, tal como descrito em diversas farmacopéias, caracteriza a *percolação simples* e a *percolação fracionada*. O produto obtido denomina-se *percolado* (Voigt, 2000).

Diferentemente da maceração, a percolação é uma operação dinâmica, indicada na extração de substâncias, farmacologicamente muito ativas, presentes em pequenas quantidades ou pouco solúveis e quando o preço da droga é relevante. Entre as variações do processo, cabe destacar a repercolação e a percolação em bateria ou sequencial. Outras técnicas afins são a extração em carrossel e em contra-corrente, que também promovem o esgotamento da droga vegetal (List e Schmidt, 1989). A extração por Soxhlet, em nível laboratorial, também não deixa de ser um tipo de percolação cíclica, com destilação simultânea e reaproveitamento do solvente.

Na percolação simples, o procedimento usual inicia-se com o intumescimento prévio da droga com o líquido extrator, durante 1 a 2 horas, fora do percolador, de forma que as forças de expansão resultantes não venham afetar a estrutura deste. Após o intumescimento segue-se a fase mais crítica, que é o empacotamento homogêneo e não muito compacto do percolador. Nesse sentido, os principais fatores a serem considerados são similares àqueles vistos na preparação de colunas cromatográficas,

como homogeneidade de enchimento, tamanho de partícula e fenômenos de difusão. Juntamente com a qualidade de empacotamento, também a forma e as dimensões do percolador, assim como a velocidade de fluxo, desempenham papel determinante na eficiência da percolação. A altura do enchimento deve estar na proporção de 5:1 em relação ao diâmetro médio do recipiente. Em percoladores oficiais, a velocidade de fluxo pode ser lenta (0,5 a 1 mL/min/kg), moderada (1 a 2 mL/min/kg) ou rápida (2 a 5 mL/min/kg), considerando um tamanho de partícula de 1 a 3 mm. Partículas com diâmetro inferior a 1 mm podem produzir uma compactação excessiva, reduzindo a velocidade de fluxo, sem que ocorra, necessariamente, um incremento na eficiência do processo.

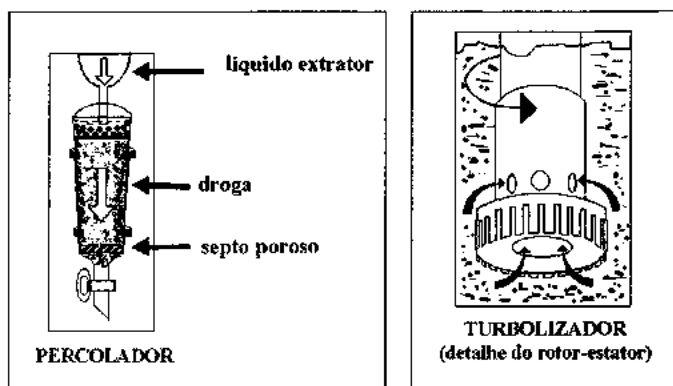


Figura 5. Representação esquemática de um percolador e do sistema rotor-estator de um turbolizador

A *percolação fracionada* implica a separação das duas ou três primeiras frações de percolado, que contêm, normalmente, em torno de 75 a 80% das substâncias passíveis de extração (figura 6), das frações seguintes, mais diluídas. Estas últimas são destinadas à fase posterior de concentração ou de simples ajuste do volume final, como é o caso dos extratos fluidos.

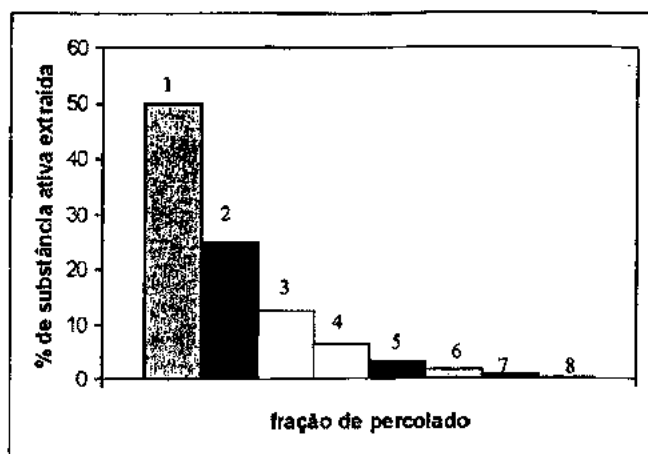


Figura 6. Percentagem de substância ativa extraída em função da fração de percolado após esgotamento da matéria-prima vegetal

A quantidade de líquido extrator requerida para esgotar a droga vegetal é uma das desvantagens assinalada à percolação simples. Uma das formas de contornar esse inconveniente é através do uso de um sistema de percoladores em série, conhecido como bateria de percolação, em que três ou, geralmente, mais percoladores são interconectados de tal modo que as frações mais diluídas de um percolador passam a alimentar o percolador seguinte, seguindo um esquema sequencial de percolação fracionada.

A extração em *carrossel* baseia-se no princípio da extração *em contra-corrente*, em que cada compartimento representa uma percolação separada (figura 7). Essa técnica, junto com a extração fracionada, representa dois exemplos de técnicas exaustivas utilizadas na produção em grande escala.

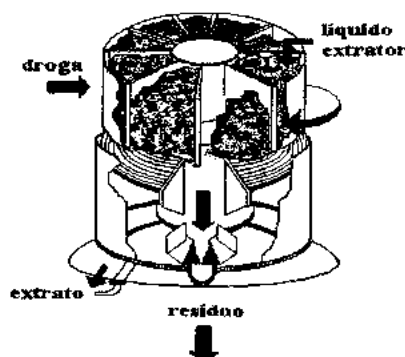


Figura 7. Representação esquemática de um extrator em carrossel.

5.2.4. Turbo-extração

A técnica baseia-se na extração com simultânea redução do tamanho de partícula, resultado da aplicação de elevadas forças de cisalhamento, geradas no pequeno espaço compreendido entre o estator e um rotor de alta velocidade (5000 a 20000 rpm) (figura 5). A redução drástica do tamanho de partícula e o conseqüente rompimento das células favorece a rápida dissolução das substâncias ativas (Voigt, 2000). Nessas circunstâncias, a difusão das substâncias dissolvidas através da membrana celular fica relegada a um plano secundário, resultando em tempos de extração da ordem de minutos e o quase esgotamento da droga. A esse incremento da eficiência somam-se a simplicidade, rapidez e versatilidade da técnica, que permitem a fácil utilização dessa técnica em processamentos em pequena e média escala.

Entre os inconvenientes assinalados à turbo-extração cabe mencionar: a difícil separação da solução extrativa por filtração; a geração de calor durante o procedimento, que obriga a controlar a temperatura, restringindo o emprego de líquidos voláteis e a limitação técnica, quando se trata de caules, raízes ou materiais de elevada dureza.

5.3. Operações de purificação de soluções extrativas

Após a obtenção das soluções extrativas, segue-se uma série de operações, cuja finalidade é a separação da solução extrativa de resíduos vegetais e material em suspensão, formados após a extração. Dentro desse grupo de operações estão a sedimentação, decantação, centrifugação e filtração. As duas primeiras são operações preliminares, que normalmente antecedem à centrifugação ou à filtração e cuja eficiência de separação depende, principalmente, do tamanho de partícula e da viscosidade do sistema. A filtração, por sua vez, pode ter caráter de operação preliminar ou terminal. No primeiro caso, constitui uma separação grosseira denominada *clarificação*, em que são utilizados septos porosos de metal, porcelana, vidro ou tecido. Na filtração terminal são usados filtros de profundidade ou septos de vidro sinterizado, sendo o objetivo a obtenção de uma solução límpida, transparente e estável por um tempo determinado, que esteja de acordo com a finalidade do seu uso. Os fatores determinantes da sua eficiência e velocidade são dados pela lei de Poiseuille, pela massa de sólidos em suspensão e pela aplicação de pressão positiva ou negativa (Martin e Bustamante, 1993).

A centrifugação de soluções extrativas tem relevância maior em nível industrial, sendo a operação de escolha quando a sedimentação e a filtração, em função do tamanho de partícula muito pequeno ou da viscosidade do sistema, resultam ser impraticáveis (List e Schmidt, 1989).

5.4. Operações de concentração e de secagem

A concentração objetiva a eliminação parcial do líquido extrator ou total de um dos seus componentes, caso o mesmo seja constituído por uma mistura de líquidos. A concentração leva à obtenção de um produto intermediário concentrado, com viscosidade e consistência variáveis, que deve atender exigências técnicas específicas à finalidade do seu emprego. Em algumas situações, a concentração tem a função específica de eliminar a fração mais volátil de uma mistura de líquidos, como é o caso da desalcooolização. Se o líquido extrator é tóxico ou incompatível com a forma farmacêutica a ser elaborada, é recomendado evitar o uso de misturas azeotrópicas, que tornam mais laboriosa - e onerosa - a produção do fitoterápico (tabela 6).

TABELA 6
Misturas azeotrópicas de interesse em tecnologia de fitoterápicos

Substâncias	Composição percentual (m/m)	temperatura T (°C)
Acetato de etila : água	98,7 : 1,3	34, 2
Acetato de etila: etanol	69 : 31	71,8
Etanol : água	95,57 : 4,43	78,2
Etanol : acetato de etila	30,6 : 69,4	71,8
Etanol : metiletilcetona	40 : 60	74,8
Etanol: acetato de etila : água	9 : 83 : 8	70,3
Éter etílico : etanol	40 : 60	74,8
Metiletilcetona : metanol	86 : 14	55,9
Metiletilcetona : água	89 : 11	73,6

A secagem pressupõe a eliminação da fase líquida até valores residuais, com uma eficiência que depende das características do líquido extrator tratado, geralmente água, do princípio da técnica e do tipo de evaporador. Com exceção da liofilização, as principais técnicas de secagem baseiam-se na utilização de calor, associado - ou não - a sistemas de redução da pressão. Entre as técnicas mais conhecidas têm-se a evaporação por aspersão, por formação de filme, com suas múltiplas derivações, e a evaporação sob vácuo. Enquanto que esta última é mais comum na escala laboratorial, as técnicas que funcionam por formação de filme são próprias para média e grande escala (Schaefer, 1972; Bartholomé et al., 1988; List e Schmidt, 1989; Voigt, 2000).

A secagem em torre de aspersão ou *Spray-drying* funciona segundo o princípio do aumento da superfície específica da solução, suspensão ou emulsão a secar, através de sua aspersão, elevando, assim, a área de contato com o fluido de secagem. Existem equipamentos com dimensões compatíveis com o trabalho em pequena, média e larga escala, o que torna essa técnica de secagem a mais versátil de todas (Casadebaig et al., 1989, List e Schmidt, 1989,

Bassani, 1990; Broadhead et al., 1992; Senna, 1993; Killen, 1996; Lemos-Senna et al., 1997; Wendel e Çelik, 1998). O volume de produção, as características físicas e físico-químicas do produto seco por aspersão e a maleabilidade operacional constituem algumas das vantagens associadas à técnica, a qual, porém, exige um aporte energético considerável.

Do ponto de vista tecnológico, a concentração e a secagem são as operações de maior demanda energética, cuja dificuldade operacional está relacionada com o ponto de ebulição, massa do líquido a ser eliminada, conteúdo de sólidos dissolvidos ou suspensos e eventual formação de azeótropos. Em ambos os casos, é frequente a utilização de sistemas operando sob pressão reduzida, sendo que a escolha final de uma determinada técnica e das dimensões da aparelhagem dependem da massa líquida a ser eliminada por unidade de tempo, assim como das características do líquido extrator ou da mistura de extração (List e Schmidt, 1989).

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O conjunto de aspectos abordados neste capítulo evidencia a importância da investigação científica para o desenvolvimento de um produto fitoterápico. Tais investigações deverão ser direcionadas à valorização e modulação da atividade farmacológica a ser explorada, garantindo a ação terapêutica, a segurança de utilização bem como a viabilidade de produção.

Aponta-se, como de importância equivalente, os aspectos relacionados com o ciclo de produção dos produtos fitoterápicos, intermediários ou finais, com vistas à obtenção de reprodutibilidade de lotes no que se refere às especificações estabelecidas na fase de desenvolvimento.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AÏACHE, J.-M.; AÏACHE, S.; RENOUX, R. *Initiation à la connaissance du médicament*. Paris: Masson, 1995.
- BARTHOLOMÉ, E. et al. (Hrsg.). *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*. Unit Operations. Weinheim: Chemie, 1988. v. 2 e v. 3.
- BASSANI, V.L. *Valorisation de formes galéniques végétales, desalcooolisation et concentration de solutions extractives sur membrane d'osmose inverse*. Montpellier: Faculté de Pharmacie, Université de Montpellier I, 1990. Tese de doutorado.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Portaria nº 116, de 8.8.1996. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*, 12 ago 1996.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) nº 17 de 24.2.2000. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*, 24 abr. 2000.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) nº 33 de 19.4.2000. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*, 6 jun. 2001a.

- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) nº 134 de 13.7.2001. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*, 16 jul. 2001b.
- BROADHEAD, J.; EDMOND ROUAN, S.K.; RHODES, C.T. The Spray Drying of Pharmaceuticals. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, v. 18, n. 11-12, p. 1169-1206, 1992.
- BURGER, A.; DIALER, R. Zur Wirkstofffreigabe aus pflanzenhaltigen Dragees. 1. Mitteilung. *Scientia Pharmaceutica*, v. 49, p. 461 - 471, 1981.
- CASADEBAIG, J. L.; JACOB, M.; CASSANAS, G.; MARION, C.; PUECH, A. Elaboration d'extraits végétaux adsorbés, réalisation d'extraits secs d'*Orthosiphon staminus*. *Pharmaceutica Acta Helveticae*, v. 64, n. 8, p. 220-224, 1989.
- CAPSUGEL. *The Hard Gelatine Capsule Advantage*. 1999. Disponível em: <www.capsugel.com>. Capturado como conisnap.pdf em 20 mar. 2002.
- CHEMTOB, C. Les capsules dures ou gélules. *Lettre Phytotérapique et Pharmaceutique*, Suppl. n. 4, p. 21-24, 1988.
- COUTO, A.G. *Desenvolvimento e avaliação tecnológica de granulado contendo produto seco nebulizado de Phyllanthus niruri L. (quebra-pedra)*. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre: 2000.
- COUTO, A.G.; GONZÁLEZ ORTEGA, G.; PETROVICK, P.R. Granulação. *Caderno de Farmácia*, v.16, n. 1, p. 13-20, 2000.
- COUTO, A.G.; BASSANI, V.L.; GONZÁLEZ ORTEGA, G.; PETROVICK, P.R. Caracterização tecnológica do produto seco por aspersão de *Phyllanthus niruri* L. Euphorbiaceae. *Acta Farmacêutica Bonaerense*, v. 20, n. 3, p. 189-196, 2001.
- CRIPPA, F. Problems of Pharmaceutical Techniques with Plant Extracts. *Fitoterapia*, v. 49, p. 257-263, 1978.
- DE PAULA, I.C.; GONZÁLEZ ORTEGA, G.; BASSANI, V.L.; PETROVICK, P.R. Development of Ointment Formulations Prepared with *Achyrocline satureioides* Spray-dried Extracts. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, v. 24, n. 3, p.235-241, 1998.
- DE SMET, P.A.G.M.; BROUWERS, J.R.B.J. Pharmacokinetic evaluation of herbal remedies. *Clinical Pharmacokinetics*, v. 32, n. 6, p.427-436, 1997.
- DE SOUZA, K.C.B.; PETROVICK, P.R.; BASSANI, V.L.; GONZÁLEZ ORTEGA, G. The adjuvants Aerosil 200 and Gelita-Sol-P influence on the technological characteristics of spray-dried powders from *Passiflora edulis* var. *flavicarpa*. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, v. 26, n. 3, p. 331-336, 2000.
- DE SOUZA, T.P.; BASSANI, V.; GONZÁLEZ ORTEGA, G.; DALLA COSTA, T.C.T.; PETROVICK, P.R. Influence of adjuvants on the dissolution profile of tablets containing high dose of spray-dried extract of *Maytenus ilicifolia*. *Die Pharmazie*, v. 56, n. 9, p. 730-733, 2001.
- DE SOUZA, T.P. *Influência de adjuvantes farmacêuticos sobre as características tecnológicas de compactos contendo alto teor de produto seco nebulizado de Maytenus ilicifolia Martius ex Reiss. (Celastraceae)*. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1999.
- DEPRAERE, F. *Gelules*. Caen: Faculté de Pharmacie, 2001. Disponível em: <www.pharmacie.unicaen.fr/deprat/gelules.htm>. Capturado em 01 jun. 2002.
- DEUTSCHES Arzneibuch 10. Ausgabe. Frankfurt: Deutscher Apotheker. 1992.

- DIAZ, L.M.; SOUTO, C.; CONCHEIRO, A.; GÓMEZ-AMOZA, J.L.; MARTINEZ-PACHECO, R. Evaluation of Eudragit E as major excipient in tablets of dry plant extracts. *S.T.P. Pharma Sciences*, v. 6, n. 2, p. 105-109, 1996.
- FARIAS, M.R.; SCHENKEL, E.P.; BERGOLD, A.M.; PETROVICK, P.R. O problema da qualidade de fitoterápicos. *Caderno de Farmácia*, v. 1, n. 2, p. 73-82, 1985.
- FARMACOPÉIA Brasileira. 4. ed. São Paulo: Atheneu, 1988. Pt. 1.
- FISCHER-RASMUSSEN, W.; KJAER, S.K.; DAHL, C.; ASPING, U. Ginger treatment of hyperemesis gravidarum. *European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology*, v. 38: p. 19-24, 1990.
- FRANCE, Ministère des Affaires Sociales et de l'Emploi. Ministère Chargé de la Santé et de la Famille, Direction de la Pharmacie et du Medicament. *Bonnes pratiques de preparations officinales*. Fasc. Special, n. 88/7 bis, Paris, 1989.
- FRANCE, Ministère des Affaires Sociales et de l'Emploi. *Avis aux fabricants concernant les demandes d'autorisation de mise sur le marché de spécialités pharmaceutiques a base de plantes*. Paris: Direction des Journaux Officieles, 1995.
- GONZÁLEZ ORTEGA, G.; SCHMIDT, P.C. Obtención de comprimidos conteniendo extractos atomizados de flor de la pasión (*Passiflora incarnata* L.). *Acta Farmacéutica Bonaerense*, v. 14, n. 3, p. 173-180, 1995.
- GRAF, E.; BORNKESSEL, B. Analytische und pharmazeutisch-technologische Versuche mit Baldrian. *Deutsche Apotheker Zeitung*, v. 118, n. 4, p. 503-508, 1978.
- GRONTVED, A.; HENTZER, E. Vertigo-reducing effect of ginger root: a controlled clinical study. *Journal for Oto-Rhino-Laryngology*, v. 48, p. 282-286, 1986.
- HARNISCHFEGGER, G. *Qualitätskontrolle von Phytopharmaka*. Stuttgart: Thieme, 1985.
- HEBERLÉ, G. *Desenvolvimento do produto seco por aspersão de Cecropia glazioui Sneth. (Cecropiaceae)*. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2000.
- IKUTA, A.R.Y. *Estudos sobre a propagação de marcela, Achyrocline satureioides (Lam.) D.C., Compositae*. Porto Alegre: Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1993. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia.)
- JEKÖ, Z. B.; MÁTE, M.; KRAUSZ, E.; BENE, M. Development and Scale Up of a New Film Coated Tablet Containing Dry Herba Extract. *Pharmazie*, v.54, n.2, p.148-150, 1999.
- KILLEN, M.J. Spray drying and spray congealing of pharmaceuticals. In: SWABRICK, J.; BOYLAN, J.C. (ed.) *Encyclopedia of pharmaceutical technology*. New York: Marcel Dekker, 1996. v. 14, p. 207-222.
- KNORST, M.T. *Desenvolvimento de forma farmacêutica plástica contendo extrato de Achyrocline satureioides*. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1991.
- LANTZ, R. J. Jr. Size reduction. In: LIEBERMANN, H. A.; LACHMAN, L.; SCHWARTZ, J.B. (ed.). *Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets*. 2.ed. New York: Marcel Dekker, 1990. v.2, p. 162-186.
- LE HIR, A. *Pharmacie galénique*. Paris: Masson, 1996.
- LEMOSENNA, E.; PETROVICK, P.R.; GONZÁLEZ ORTEGA, G. BASSANI, V.L. Preparation and characterization of spray-dried powders from *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. extracts. *Phytotherapy Research*, v. 11, p. 123-127, 1997.
- LIEBERMANN, H. A.; LACHMAN, L.; SCHWARTZ, J.B. (ed.). *Pharmaceutical dosage forms: tablets*. 2.ed. New York: Marcel Dekker, 1990. v.2.
- LINDEN, R. *Desenhos estatísticos e metodologia de análise de superfície e resposta*

- aplicados à obtenção de formas farmacêuticas sólidas derivadas de Passiflora edulis Sims.* Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1998.
- LIST, P. H.; SCHMIDT, P. C. *Phytopharmaceutical Technology*. London: Heyden, 1989.
- MARTIN, A.; BUSTAMANTE, P. *Physical Pharmacy*. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993.
- MOUETTE, M. G. Correspondences entre les formes galéniques des drogues végétales. *Lettre Phytotérapique et Pharmaceutique*, Suppl. n. 4, p 53-54, 1988.
- NEUWALD, F.; SCHEEL, D. Untersuchungen über die Eignung von Behältern aus verschieden Kunststoffen als pharmazeutisches Verpackungsmaterial. *Pharmazeutische Industrie*, v. 31, n. 11a, p. 879 - 882, 1969.
- PALMA, S.D.; MANZO, R.H; ALLEMANDI, D.A. Dry plant extracts loaded on fumed silica for direct compression: preparation and preformulation. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, v. 4, n. 4, p. 523-530, 1999.
- PEREIRA, M.A.C. *O perfil da indústria farmacêutica do Estado do Rio Grande do Sul*. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2002.
- PETROVICK, P.R.; KNORST, M.T. Characterization of a Concentrated Extract of *Achyrocline satureioides* as an Intermediary Product in the Preparation of an Ointment. *Phytotherapy Research*, v. 5, p. 237-238, 1991.
- PETROVICK, P.R.; ENE, L.L.; MENDA, B.B.C.; SARTOR, I.; GALINA, S.M.; SILVEIRA, A.M. da; ALMEIDA, S.H.O.; FOGAÇA, S.C.; JECKEL, L.C. Avaliação organoléptica de xarope artificial contendo esteviosídeo como edulcorante. *Caderno de Farmácia*, v. 9, n. 1, p. 37 - 39, 1993.
- PETROVICK, P.R.; GONZÁLEZ ORTEGA, G.; LINCK, V.B. Compression Characteristics of Spray Dried Extracts from Medicinal Plants. In: AAPS ANNUAL MEETING, 10, 1995, Miami, *Pharmaceutical Research*, v. 12, Suppl., p. S-167, 1995. PT 6123.
- PETROVICK, P.R.; GONZÁLEZ ORTEGA, G.; BASSANI, V.L. From a Medicinal Plant to a Pharmaceutical Dosage Form. A (Still) Long Way for the Brazilian Medicinal Plants. *Ciência e Cultura*, v. 49, n. 5/6, p. 364-369, 1997.
- PETRY, R.D. *Desenvolvimento e validação de métodos de doseamento de flavonóides de Passiflora edulis Sims. (maracujá)*. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1999.
- ROBERT, G.; WAGINAIRE, L.; VIORNERY, M. Bonnes pratiques de fabrication des extraits végétaux. *Labo-Pharma*, v. 288, p. 553-555, 1979.
- ROCKSLOH, K.; RAPP, F.R.; ABU ABED, S.; MÜLLER, W.; REHER, M. GAUGLITZ, G.; SCHMIDT, P.C. Optimization of crushing strength and disintegration time of a high-dose plant extract tablet by neural network. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, v. 25, n. 9, p. 1015-1025, 1999.
- ROUBAUDI, F. Les suspensions intégrales de plantes fraîches: SIPF procédé de stabilisation des plantes fraîches. *Lettre Phytotérapique et Pharmaceutique*, Suppl. n. 4, p 33-35, 1988.
- SCHAEFER, F. Verdampfer. In: BARTHOLOMÉE E. et al. (Hrsg.) *Ullmann's Enzyklopädie der technischen Chemie*. Weinheim: Chemie, 1972. v.2, p 650-663.
- SCHILCHER, H. *Phytopharmaka: Qualitätssicherung und -kontrolle, neue Verfahren*

- und Zubereitungen. In: MÜLLER, R.H.; HILDEBRAND, G.E. (Hrsg.) *Pharmazeutische Technologie: moderne Arzneiformen*. Stuttgart: Wissenschaftliche, 1997. Cap. 6, p. 59-68.
- SCHILLER, M.; VON DER HEYDT, H.; MÄRZ, F.; SCHMIDT, P.C. Determination of carbohydrate content of plant dry extracts and comparison with their water sorption behavior. *Archiv der Pharmazie*, v. 333, Suppl. 1/00, p. 27, 2000.
- SCHMIDT, P.C. Technologische Aspekte der Entwicklung und Herstellung pflanzlicher Extrakte. *Pharmazeutische Industrie*, v. 59, n. 1, p. 69-77, 1997.
- SENNA, E.M.T.L. *Desenvolvimento de extratos secos nebulizados de Achyrocline satureioides (Lam.) DC. Compositae (Marcela)*. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1993.
- SOARES, L.A.L. *Obtenção de comprimidos contendo alto teor de produto seco por aspersão de Maytenus ilicifolia Martius ex Reiss. – Celastraceae. Desenvolvimento tecnológico de produtos intermediários e final*. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2002.
- STOYE, D. Lösungsmittel. In: BARTHOLOMÉ, E. et al. (Hrsg.). *Ullmann's Enzyklopädie der technischen Chemie*. Weinheim: Chemie, 1978. v. 16, p. 279-312.
- THE UNITED STATES Pharmacopeia. 23. ed. rev., Rockville: Unites States Pharmacopial Convention, Easton: Mack, 1995.
- VIDAL-TESSIER, A. M. Revue critique sur les formes phytotériques, en particulier celles destinées aux préparations magistrales. *Lettre Phytotérique et Pharmaceutique*, Suppl. n. 4, p. 8-14, 1988.
- VOESTE, T.K.; WESP, K. Extraktion von Feststoffen. In: BARTHOLOMÉ, E. et al. (Hrsg.). *Ullmann's Enzyklopädie der technischen Chemie*. Weinheim: Chemie, 1978. v. 2, p. 279-312.
- VOGELPOHL, A.U.; SCHLÜNDER, U. Trocknung fester Stoffe. In: BARTHOLOMÉ, E. et al. (Hrsg.). *Ullmann's Enzyklopädie der technischen Chemie*. Weinheim: Chemie, 1972. v. 2, p. 722-730.
- VOIGT, R. *Pharmazeutische Technologie*. 9. Ausgabe, Stuttgart: Deutscher Apotheker, 2000.
- WENDEL, S.; ÇELİK, M. Uma visão geral sobre o uso da tecnologia de Spray-Drying. *Pharmaceutical Technology* (ed. bras.), abril, p. 31-45, 1998.
- WERNER, W. Security in laboratory. *Caderno de Farmácia*, v. 9, n. 2, p. 65-70, 1993.

8. SUGESTÕES PARA LEITURA

- LIST, P. H.; SCHMIDT, P. C. *Phytopharmaceutical Technology*. London: Heyden, 1989.
- PETROVICK, P.R.; GONZÁLEZ ORTEGA, G.; BASSANI, V.L. From a Medicinal Plant to a Pharmaceutical Dosage Form. A (Still) Long Way for the Brazilian Medicinal Plants. *Ciência e Cultura*, v. 49, n. 5/6, p. 364-369, 1997.

AGRADECIMENTOS

Este capítulo só foi possível pela existência de nossos alunos bolsistas de Iniciação Científica e orientados de Mestrado e Doutorado, que através da

jovialidade, do dinamismo e de sua entrega total aos objetos de pesquisa, plantas medicinais e fitoterápicos, forneceram os dados que ilustram esta parte e auxiliaram na coleta de informações. A todos, os autores expressam seus sinceros agradecimentos.

1. EVOLUÇÃO DA NORMATIZAÇÃO DE FITOTERÁPICOS NO BRASIL AO LONGO DOS TEMPOS

NORMATIZAÇÃO DA PRODUÇÃO E COMERCIALIZAÇÃO DE FITOTERÁPICOS NO BRASIL

AUTOR

Lula Carlos Marques
Pedro Ros Petrovick

SUMÁRIO DO CAPÍTULO

1. Evolução da normatização de fitoterápicos no Brasil ao longo dos tempos
2. Tendências internacionais na normatização de fitoterápicos
3. O estabelecimento de legislação brasileira para a área
4. Perspectivas de efetividade de normatização para a área
5. Referências bibliográficas
6. Páginas da Internet de interesse

1.1. Primórdios

Os primeiros atos normativos de expressão referentes às plantas medicinais no Brasil estavam relacionados com as atividades ligadas à saúde. Os Regimentos portugueses de 25.2.1521 e de 12.12.1631 regulamentavam a relação entre os agentes de saúde, o estado e os usuários, incluindo os cuidados nas preparações de medicamentos, tanto na matriz, Portugal, como nas províncias ultramarinas (Carrara e Meirelles, 1996). Esta regulamentação perdurou, no Brasil, até a chegada da Família Real portuguesa, fugida da invasão napoleônica, em 1808. O Alvará de 23.11.1808 e a Lei de 30.8.1828 regularizam a situação do boticário, estabelecendo parâmetros de comportamento e de práticas de produção (Piragibe, 1880). A manipulação de produtos oriundos da flora nacional, que predominavam nas boticas de atendimento ao público em geral e aos fidalgos, no entanto, não encontrava uma obra oficial de referência. Assim sendo, o *Codex Medicamentarius Gallicus* permanece válido, até 1929, como código oficial, no País. A independência e o período monárquico pouco mais contribuíram para a normatização dos produtos fitoterápicos, conforme citam Abreu (1901) e Buarque de Hollanda (1985).

A publicação da primeira edição da Farmacopéia Brasileira representou um esforço significativo de regulamentar a manipulação de produtos derivados das plantas medicinais brasileiras (Silva, 1929). Elaborada por Rodolfo Albino, praticamente sozinho, num prazo de doze anos, essa obra contemplou mais de duzentas e oitenta espécies botânicas nacionais e estrangeiras (Pereira *et al.*, 1989), compondo as monografias a serem usadas como referência nos aspectos de controle da qualidade na produção de medicamentos. Refletia, assim, as características da terapêutica da época, fundamentada majoritariamente em fitoterápicos e produtos biológicos (Frenkel *et al.*, 1978).

Representando o nítido desenvolvimento da indústria farmacêutica brasileira a partir da expansão comercial das tradicionais boticas (Liberalli, 1944), a edição da Farmacopéia oficializou a utilização das plantas medicinais como matéria-prima farmacêutica. Na mesma linha, em adição, o governo Brasileiro promoveu a normatização da profissão farmacêutica e de seu exercício no país, aí incluídas as atividades referentes à produção industrial de medicamentos, através do Decreto nº 19606 de 19.1.1931, regulamentado pelo Decreto nº 20377 de 8.9.1931 (Bijos e Pillar, 1964).

O decreto 19606, que marca o início formal das atividades de vigilância sanitária no país, congrega, em sua formulação, toda uma estrutura de sistema, onde são previstas, desde a responsabilidade pela fiscalização do exercício da farmácia até multas à infração do mesmo, passando por determinações detalhadas sobre a profissão farmacêutica tais como diplomas, âmbito profissional, instalação de farmácias, aviamento, substâncias controladas, da indústria farmacêutica, das drogarias, laboratórios privativos e das ervanarias. Já o decreto regulamentador 20377, além de reproduzir e ampliar o contido no anterior, incluiu, ainda, outros capítulos específicos sobre receitas e receituários, laboratórios de análises e de pesquisas, indústria química e farmacêutica em geral, especialidades farmacêuticas e outros.

Especialmente sobre plantas medicinais, os decretos em questão incluíam, no âmbito farmacêutico, o comércio direto com o consumidor de plantas medicinais de aplicações terapêuticas. Em capítulo à parte complementava-se essa normatização estabelecendo tal comércio como privativo de farmácias e ervanarias, definindo a questão da propriedade dos estabelecimentos já existentes à época, a renovação da licença, proibição do comércio conjunto com fetiches, exigindo também o acondicionamento das plantas livre da presença de pó e de outros contaminantes. Em seu artigo 76, o decreto 20377 determinava a apreensão e inutilização de plantas medicinais *sob classificação botânica falsa ou desprovidas de ação terapêutica*, determinação correta, mas que demonstra a antiguidade da confusão conceitual entre os termos *identificação*, mais adequado ao sentido pretendido na legislação, e o termo *classificação botânica*.

Ao final, acrescentava listas de produtos que deveriam existir nas far-

mácias, citando-se inúmeras plantas, drogas e insumos derivados, tais como: abacateiro, abútua, açafrão, ácido gálico, aloína, bálsamos, boldo, camomila, cânfora, coca, codeína, várias essências, extratos em geral (148 itens), gengibre, guaiacol, ipeca, jalapa, licopódio, linho, maná, mirra, muirapuama, noz-vômica, vários óleos (de cade, gergelim, meimendro, etc.), papafna, quinas, salsaparrilha, teobromina, terebintina, tinturas (98 itens, em sua maioria vegetais), uva-ursina, valeriana e outras.

Em relação aos procedimentos de registro de medicamentos, aspecto crucial à avaliação pretendida, o decreto 19606 estabeleceu exigência de *licença*, denominação vigente à época para o expediente hoje referente ao *registro*, pelo órgão nacional de saúde antes de serem entregues ao consumo para quaisquer uso, o mesmo exigindo em relação à abertura e funcionamento de estabelecimentos farmacêuticos. No entanto, esse decreto estabeleceu uma classificação dos medicamentos em *oficinais* e *especialidades farmacêuticas*, liberando os primeiros da necessidade de licença, ao especificar (art. 30, par. 1º): *os produtos oficiais podem ser preparados e vendidos pela farmácias e laboratórios farmacêuticos independentes de licença especial*. Sem definir claramente o que seriam tais produtos ou quais os limites dessa liberalização e também sem esclarecer critérios para seu controle administrativo e de qualidade, a norma legal abriu uma lacuna que veio a confundir progressivamente o setor e se desdobrar em normas posteriores. Para entender essa abertura, pode-se lembrar a forte reação da comunidade farmacêutica à época contra o surgimento das especialidades, consideradas muito prejudiciais às farmácias por substituírem as fórmulas magistrais (Liberalli, 1944). Assim, os precedentes abertos pelos conceitos em discussão provavelmente atendiam as expectativas desse segmento contrariado, criando uma classe de produtos inédita na legislação, talvez imaginando-se uma fase de transição entre a época da manipulação e a tendência majoritária da especialidade farmacêutica.

O decreto 20377 repetiu exatamente o enunciado anterior, complementando apenas com o artigo 127 que estabeleceu que *os medicamentos oficiais só estarão sujeitos a licenciamento quando modificados em sua composição e vendidos sob denominação diversa das constantes na Farmacopéia*.

Essa pouca clareza de definições levou a uma certa confusão no mercado, aí incluídos os fitoterápicos por constarem da farmacopéia e poderem ser preparados diretamente nas farmácias. No entanto, as monografias farmacopéicas não expressam os aspectos de segurança de uso (toxicidade), não referenciam eficácia e também não garantem a qualidade e estabilidade do produto final, intimamente ligadas ao sistema de produção e forma final de acondicionamento. Como a tecnologia farmacêutica e a própria farmacologia encontravam-se pouco desenvolvidas no começo do século, a inclusão da espécie vegetal na Farmacopéia talvez expressasse o reconhecimento da ciência da época, porém constituiu-se numa forma inadequada de reconhecimento e

que se perpetuou como proposta de oficialidade em aspectos que, por princípio, não cabem a um documento como a Farmacopéia. Tal conceito se estabeleceu e se difundiu, confundindo produtores e usuários.

1.2. O desenvolvimento da indústria farmacêutica

Carrara e Meirelles (1996) descrevem a evolução da produção de medicamentos no Brasil, identificando como fases de alterações marcantes os períodos anterior e posterior à chegada da família real portuguesa, o início da industrialização e da globalização do mercado.

A aplicação das normas anteriormente citadas parecia restringir-se na época à Capital Federal (Rio de Janeiro) e a alguma outra localidade de maior porte. Os Estados em geral ainda não detinham esquemas próprios capazes para aplicação dessas diretrizes (Reestruturação, 1947). A ausência de um sistema de fiscalização efetivo, associado ao momento de competição acirrada entre as indústrias nacionais, embasadas em fitoterápicos, e as multinacionais, propiciou condições ao surgimento e desenvolvimento de empresas pouco estruturadas. Nesse sentido, afirma Liberalli (1944): *que as Leis, excelentes no papel, continuem inoperantes na prática. Que as cozinhas farmacêuticas, caricaturas de laboratórios, dignas irmãs dos botequins farmacêuticos, caricaturas de farmácias, prossigam à sombra de todas as displicências, a enxovalhar o nome da nossa indústria farmacêutica e a cercar o seu desenvolvimento em base sadia.*

Essa indignação com a fraude e a má qualidade é marcante e expressa a incapacidade dos órgãos governamentais em implantar a legislação na prática. Esse mesmo autor é explícito ao afirmar que *a imensa maioria das nossas fábricas de produtos farmacêuticos não possui laboratório de controle; as matérias-primas são compradas em confiança ou mandadas analisar fora quando o técnico desconfia delas* (Liberalli, 1944).

Na busca de alternativas a esse contexto de inoperância da fiscalização sanitária, emitiu-se o Decreto nº 9810 de 1.7.1942, referente à regulamentação do Serviço Nacional de Fiscalização da Medicina (SNFM) do Departamento Nacional de Saúde (Bijos e Pillar, 1964). Esse decreto buscava dar condições efetivas de aplicação dos decretos de 1931, estabelecendo a finalidade, organização, competência e outras atividades funcionais. No item organização, criou-se a Seção de Farmácia, a qual competia, dentre outras atribuições, *fiscalizar o exercício profissional, a fabricação, manipulação e comércio de drogas, plantas medicinais, emitir parecer sobre licença para ervanaria, laboratório industrial farmacêutico, sobre vendas de drogas e plantas medicinais, manter fichário das drogas, plantas medicinais e especialidades farmacêuticas, cuja licença tenha sido concedida, revalidada ou cassada pelo serviço, apreender drogas, plantas medicinais (...)* (art. 7º). O decreto nº 9810

criou também as comissões de Biofarmácia e de Revisão da Farmacopéia. À primeira competia *estabelecer a padronização de qualidade, pureza e concentração de especialidades farmacêuticas ou outros de interesse à saúde bem como coordenar e orientar a indústria na fabricação de tais produtos e a fiscalização de seu comércio e respectiva propaganda*. Já à Comissão de Revisão da Farmacopéia competia *estudar as modificações que deveriam ser feitas na Farmacopéia, resolver casos omissos e propor a inclusão de matéria nova segundo a evolução tecnológica*.

A busca do aperfeiçoamento das normas legais, somada às necessidades de uma legislação adequada àqueles tempos de franco desenvolvimento, levou à formulação e emissão do Decreto nº 20397 de 14.1.1946, que estabeleceu o regulamento do exercício da indústria farmacêutica no Brasil (Bijos e Pillar, 1964). Representando o amadurecimento do setor farmacêutico brasileiro, esse decreto, em seus 125 artigos, separou as normativas de exercício profissional daquelas de produção farmacêutica e seguiu a linha do decreto 19606, exigindo prévia licença das indústrias, responsabilidade técnica, licenças para as especialidades farmacêuticas e questões afetas a outros produtos e aos procedimentos de fiscalização. Especificamente sobre fitoterápicos, somente ocorre citação no artigo 1º: *nenhuma indústria que fabrique ou manipule drogas, plantas, óleos (...), poderá funcionar sem prévia licença e sem responsável técnico*.

É interessante notar a expressiva redução na citação dos termos drogas, plantas medicinais ou fitoterápicos nesse decreto se comparado aos anteriores. Parece ser já um reflexo da mudança de mentalidade do setor à época, fortemente influenciado pelos resultados positivos que vinha obtendo a indústria farmacêutica que utilizava fármacos de origem sintética.

Esse decreto, em relação aos produtos oficiais, estabeleceu um capítulo à parte, com certeza, refletindo a necessidade de melhor esclarecer o tema em função de manifestações dos produtores. Esse tema inclusive já tinha sido alvo de atenção em 1943 através da Portaria DNS nº 47 de 6.3.1943, que codificou, dirimindo dúvidas existentes, os dispositivos referentes a produtos oficiais e especialidades farmacêuticas e revogou as disposições relativas ao assunto, constantes de normas anteriores, e a Portaria DNS nº 52 de 17.3.1943, que determinou que os produtos oficiais, que não constarem do Código Farmacêutico Brasileiro, pudessem ser fabricados de acordo com os dispositivos das farmacopéias estrangeiras e formulários listados (Brasil, 1943a,b). Apesar destes atos as dúvidas persistiram, obrigando a edição da Portaria SNFMF nº 14 em 1963 (Brasil, 1963).

Assim, o Decreto nº 20397 definiu *produto oficial* como *é todo aquele de conservação boa e relativamente longa, de fórmula e preparação fixas, inscritas na Farmacopéia Brasileira, em outras farmacopéias ou em formulários admitidos pela Comissão de Revisão da Farmacopéia*. Apesar da ten-

tativa, esse conceito continuou extremamente subjetivo e passível de interpretações diversas. Por outro lado, na questão de rotulagem trouxe algum esclarecimento, como o contido no artigo 95: *Os produtos oficinais não poderão ter nome especial, ser acompanhados de bula nem trazer nos rótulos indicações terapêuticas ou qualquer outra referência relativa à aplicação do preparado (...)*; essa determinação quanto à bula e rotulagem foi tão marcante que influencia, ainda hoje, o mercado dessa classe de medicamentos. Noutro aspecto, o decreto complicou a questão ao estabelecer outra classe de produtos, os denominados *equiparados a produtos oficinais* (preparações fitoterápicas intermediárias), tornando essa avaliação mais subjetiva ainda.

Desse período em diante, a revisão da literatura demonstra a emissão de inúmeros atos oficiais dispersos, individualizando questões e refletindo o incremento tecnológico progressivo do setor após a 2ª Guerra Mundial. Esses documentos passam, então, a complementar aqueles decretos globais, porém de forma totalmente pulverizada e dificultando o acesso às informações técnicas geralmente contidas numa única norma geral (Dias, 1980).

Um setor que mereceu legislação própria e extensa, paralela à dos medicamentos em geral, foi o referente aos denominados *entorpecentes*, que a partir de 1933 promoveu a emissão de vários documentos legais, desde o endosso a convenções internacionais de controle de tráfico até normas para o cultivo de plantas entorpecentes e a extração, transformação e purificação de seus princípios ativos (Decreto-Lei nº 4720 de 21.9.1941 - Bijos e Pillar, 1964).

Igualmente relevante foi a publicação da segunda edição da Farmacopéia Brasileira, surgida para renovar as especificações das matérias-primas, mas, também, pelo esgotamento dos exemplares da anterior já no ano de 1950 (Farmacopéia, 1959). Nessa edição ocorreu a exclusão de mais de 500 monografias envolvendo cerca de 200 espécies vegetais expressivas da nossa flora e outras estrangeiras (ex.: alecrim, alho, bálsamos, carqueja, catuaba, coentro, jalapa, licopódio, muirapuama, salsaparrilha, sálvia, uva-ursina, zimbro, dentre outras). Os argumentos para esse procedimento foram nulidade de ação terapêutica e completo desuso dessas drogas (Farmacopéia, 1959). Essas drogas, em sua maioria, sempre estiveram presentes na medicina popular e científica e também no rol da atividade industrial farmacêutica, tanto no Brasil como em todo o mundo, mantendo-se dessa forma mesmo após a exclusão citada.

Com relação à questão de ineficácia terapêutica, deve-se afirmar que a inclusão dessas drogas na primeira edição da Farmacopéia Brasileira não se baseou em dados de eficácia, em função das características da época, e sua retirada trinta anos depois seguiu o mesmo caminho, pois igualmente não se fundamentou em dados experimentais, parecendo mais uma manifestação de vontade do que conclusão inevitável baseada em fatos. Por outro lado, se tais plantas não apresentavam condições de serem oficializadas, sua inclusão na primeira edição deveria ser revogada, o que não aconteceu até hoje em função, provavel-

mente, do grave impacto que traria às indústrias nacionais que se baseiam em medicamentos oficiais (Pereira, 2002). Em oposição às centenas de drogas excluídas, a nova edição farmacopéica inclui a insignificante cifra de vinte e quatro drogas vegetais (acônito, ágar, alcachofra, alcaçuz, aloe, arnica, badiana, beladona, canela-do-ceilão, cáscara-sagrada, cólchico, cratogeomom, digital, estramônio, guaraná, hidraste, ipeca, jaborandi, lobélia, maracujá, quina-amarela, quina-vermelha, ruibarbo e sene) (Farmacopéia, 1977).

1.3. A Portaria SNFMF nº 22 de 1967

O final dos anos 50 é marcado por forte expansão do mercado de medicamentos sintéticos, surgindo daí os primeiros casos expressivos de efeitos colaterais. É clássico o ocorrido com a talidomida no ano de 1962, quando milhares de crianças em todo o mundo nasceram malformadas por influência desse fármaco.

Esse trágico evento serviu de alerta aos órgãos de fiscalização sanitária ao demonstrar o risco potencial de medicamentos e estimular um maior controle do que estava e viria a ingressar no mercado. Em fitoterápicos, tal contexto propiciou a formulação, pelo Serviço Nacional de Fiscalização da Medicina e da Farmácia (nova sigla do anterior SNFM já citado), da Portaria nº 22 de 30.10.1967, que estabeleceu normas para o emprego de preparações fitoterápicas (Brasil, 1967).

Seus onze artigos contemplam a definição de produto fitoterápico e obrigações de apresentação pelo fabricante de dados técnicos sobre a droga, a preparação fitoterápica, a fórmula, indicações terapêuticas, rótulo e bula. A existência de monografia da espécie vegetal na Farmacopéia admite a Portaria, facilita o processo de licenciamento; o contrário, por sua vez, remete o produtor à realização de ensaios farmacológicos e clínicos (toxicidade aguda e crônica, farmacologia animal, experimentação clínica e testes de teratogenicidade). Em suma, é documento de grande valor técnico ainda na atualidade, porém pouco conhecido e muito pouco aplicado.

Ao explicitar a necessidade de submeter à análise os pedidos de licenciamento para fitoterápicos, mesmo constando na Farmacopéia, esta Portaria, apesar de manter mecanismos facilitadores, exige o trâmite documental que, sem dúvida, é muito mais seguro do que a liberação automática. A Portaria 22 melhora também as exigências referentes a controle de qualidade, mesmo os relativos somente à matéria-prima vegetal, estendendo-as às preparações fitoterápicas e fórmula final do produto. Esta norma é inédita também quanto às exigências farmacológicas e terapêuticas, ao questionar os fundamentos para o emprego terapêutico e mesmo ao estimular a pesquisa farmacológica de produtos novos. Sugere complementarmente evitar-se a polifitoterapia, isto é, a combinação de drogas, nos casos de novos licenciamentos, revalidações e modificações de fórmula, sem qualquer justificativa para isso. Por fim, am-

plia sua abrangência para os fitoterápicos empregados em homeopatia, raramente lembrados nas legislações anteriores.

Em outro aspecto, além de regulamentar melhor essa classe de produtos com relação à segurança terapêutica, a emissão desta Portaria parece ter tido também a intenção de estimular o setor de fitoterápicos das indústrias nacionais de medicamentos, como saída ao entrave em que se encontravam em função da competição com as multinacionais da área (Nóbrega, 1970).

Em 1972, publicou-se a Portaria SNFMF nº 35, designando-se comissão de especialistas para reexaminar e atualizar a Portaria 22/1967, sem que se tenham notícias dos resultados do trabalho desse grupo (Brasil, 1972).

1.4. As Leis nº 5991 e nº 6360

Nos anos 70, a emissão da Lei nº 5991 de 17.12.1973 (Brasil, 1979), que dispôs sobre o controle sanitário do comércio de drogas, medicamentos e outros produtos, teve papel relevante quando estabeleceu que a dispensação de plantas medicinais é privativa de farmácias e ervanarias, observados o acondicionamento adequado e a classificação botânica (artigo 7º). Ressalve-se novamente o uso inadequado do termo *classificação* onde deveria constar o termo *identificação*, bem mais específico e adequado ao objetivo da Lei, isto é, que a espécie esteja devidamente identificada, indicando gênero, espécie com autor e família, sem a necessidade de contextualizá-la num determinado sistema taxonômico, o que corresponde à classificação botânica.

Por outro lado, quando a Lei estabeleceu a necessidade de responsável técnico, o fez apenas para farmácias e drogarias, omitindo as ervanarias dessa obrigação e repassando uma idéia de estabelecimento não farmacêutico ou de segunda classe. Essa lacuna trouxe posturas diversas, e mesmo antagônicas, por parte dos órgãos licenciadores dos Estados, tendo-se notícias de alguns locais onde se proibiu a abertura de ervanarias em função dessa omissão da necessidade de responsabilidade técnica. Contraditoriamente, seu maior mérito foi ter deixado claro que as plantas medicinais devem ser comercializadas em farmácias e ervanarias, locais onde se realiza *dispensação*, ato que envolve necessariamente o farmacêutico, excluindo desse rol os diversos tipos de estabelecimentos que impropriamente praticam essa atividade, tais como: mercearias, mercados, restaurantes vegetarianos, lojas de cosméticos, etc.

O estabelecimento da Lei nº 6360 de 23.9.1976, por sua vez, ao dispor sobre a vigilância a que ficam sujeitos medicamentos, drogas, insumos, correlatos, cosméticos, saneantes e outros, promove a concretização de um sólido sistema de vigilância sanitária, ao menos em termos de legislação (Brasil, 1976). Consolidando e atualizando normas do repertório jurídico nacional bem como algumas regras dispostas impropriamente em Portarias ou Decretos do Poder Executivo, essa Lei buscou dar condições de se *assegurar a identifica-*

de, atividade, qualidade, pureza e inocuidade devidas para os usos indicados dos respectivos produtos (Dias, 1980). O Ministério da Saúde elaborou o projeto básico, buscando simplificar a aplicação e observação da Lei, consolidando no texto disposições sobre vários produtos regidos anterior e isoladamente por normas diversas. Do mesmo modo, procedeu às modificações que já tinham mostrado vantagens em outros setores como o de alimentos, por exemplo. Assim, adotou-se o **registro** em lugar da licença, imputando-lhe um caráter precário com condições de ser cassado *sempre que o interesse público assim o exigir e à vista de razões fundamentadas* (Dias, 1980).

Como recomenda a Organização Mundial de Saúde e já ocorria em outros países, o prazo de validade do registro foi reduzido para cinco anos, em função da rápida evolução tecnológica em matéria de produção de medicamentos e outros produtos. Além desses, inúmeros outros itens compõem a Lei 6360, envolvendo os mais diversos aspectos, desde o ato de estabelecer nomes de produtos até questões de propaganda. Como ponto alto dessa nova legislação, a inclusão de procedimentos relativos ao controle da qualidade de medicamentos, considerados no conceito de integralidade, sem dúvida representou inovação positiva ao adotar sugestões recomendadas internacionalmente desde 1967 e que não haviam sido ainda incorporadas nas normas brasileiras (Dias, 1980).

Optando pela não individualização dos fitoterápicos do conjunto de medidas referentes a medicamentos, a Lei não esclareceu o seu caráter, se medicamentoso ou não. Em função disso, e também do surgimento do movimento cultural *alternativo*, tem-se questionado nos últimos anos o perfil medicamentoso exclusivo das plantas usadas em terapêutica. Assim, há interpretações naturalistas que enxergam as plantas como alimento ou *produto natural*, conceito que procura associar as idéias de alimento e medicamento em conjunto (no inglês, *health foods*) (Tyler, 1987). A ausência de citação explícita das plantas medicinais na Lei nº 6360 acabou permitindo e alimentando tal polêmica que se estende até os dias de hoje.

Já em relação aos produtos oficiais, a Lei os incluiu nos conceitos expressos no artigo 23, onde se mantém o mesmo expediente, agora na forma de *isenção de registro*. Desse modo, continuaram isentos os *produtos inscritos na farmacopéia e outros códigos aceitos, os solutos concentrados considerados oficiais e os equiparados aos oficiais*, ou seja, exatamente como estabelecido anteriormente na Portaria DNS nº 47 de 1943 (Brasil, 1943b) e incorporado no Decreto nº 20397 de 1946 (Bijos e Pillar, 1964). Incluiu-se nessa lista também uma categoria de produtos homeopáticos (inciso II), igualmente passíveis de isenção.

Essa abertura à isenção tem sido considerada a grande lacuna da Lei 6360 em relação a fitoterápicos, além da já citada omissão da própria classe de produtos, em função dos seguintes aspectos:

a) a manutenção da Farmacopéia Brasileira I em vigor tem garantido oficialidade para isenção de inúmeros medicamentos à base das centenas de espécies lá inscritas;

b) a enorme defasagem tecnológica e científica entre a elaboração daquela farmacopéia, e mesmo da segunda edição, e o momento atual, faz com que os produtos isentados com base em tais livros incorporem tais problemas;

c) a eliminação da exigência expressa na Portaria nº 22/1967 quanto à elaboração e apresentação de dossiê técnico para análise ministerial, nos casos de isenção, tem mantido as interpretações dúbias de que é possível a auto-isenção, sem qualquer solicitação formal para isso;

d) mantém-se o desestímulo à pesquisa e desenvolvimento tecnológico nessa área de *oficinais*, que se desdobra na manutenção do baixo nível de qualidade desses produtos e na insuficiência de dados dos mesmos quanto aos aspectos de segurança, eficácia e qualidade.

Assim, em tese, qualquer empresa poderia elaborar produtos oficiais e lançá-los ao mercado com base no artigo 23 da Lei 6360/1976, sem se submeter a qualquer seleção e avaliação técnica prévias. Essa possibilidade por demais liberal tem propiciado ao abuso desse expediente e ao lançamento de qualquer fitoterápico como isento, mesmo não constando nas farmacopéias e nem em outros códigos oficializados (Marques, 1992). A falta de um número qualquer nos rótulos desses produtos praticamente inviabiliza a ação da fiscalização sanitária pela absoluta impossibilidade de conferência da veracidade da isenção.

Outra crítica que tem sido feita à Lei nº 6360 refere-se ao seu extremo detalhamento. Nesse sentido afirma Rappel (1981), ao questionar, por exemplo, a especificação de padrões de rotulagem para medicamentos, o que implica em mudança da Lei caso surja alguma necessidade de alteração nesse aspecto. A solução, segundo o autor, passaria pelo uso racional das estruturas administrativas (câmaras setoriais) dos diversos órgãos federais encarregados da normatização da economia do país.

Um outro aspecto que tem sido muito criticado, por fim, refere-se à abertura estabelecida no parágrafo único do artigo 78 da Lei 6360/1976 (Farias et al., 1985). Nesse artigo, obriga-se que todo laboratório produtor de medicamentos tenha um Departamento Técnico de Inspeção de Qualidade, com a finalidade de *verificar a qualidade das matérias-primas ou substâncias, vigiar os aspectos qualitativos das operações de fabricação e a estabilidade dos medicamentos produzidos e realizar os demais testes necessários*. Contraditoriamente, porém, seu parágrafo único faculta a realização de convênios com institutos ou laboratórios oficiais de controle de qualidade.

Na prática, essa possibilidade desestimula o controle próprio, tecnicamente adequado e sintonizado com o domínio global das técnicas pelo produtor, e cria pressões internas nas empresas no sentido de desencadear a pro-

dução ou comercialização antes da chegada do resultado do controle. Pode-se lembrar ainda que o laboratório conveniado geralmente não fornece resultados com muita celeridade ou ainda não há garantia alguma de que o resultado insatisfatório seja respeitado pela empresa. Outra faceta desse problema refere-se à formalização dos tais convênios, pois tem sido verificada a anexação desse tipo de documento às solicitações de licença e registro oficiais e nada mais, constituindo-se num expediente burocrático e falso, sem qualquer relação com a esperada garantia de qualidade (Marques e Bório, 1991).

1.5. Os anos 80 e 90

Nesse período, em função do aumento do consumo de plantas medicinais, decorrente do modismo naturalista existente à época (Teixeira, 1985), começam a surgir regulamentações setoriais complementares. Assim se entende a Portaria DIMED nº 12 de 17.7.1980, que proíbe a fabricação e venda de produtos que contenham a substância estricnina e seus compostos (Brasil, 1980).

Na área de meio ambiente, ocorre o mesmo com a Portaria nº 174-P de 11.3.1981 e Portaria Normativa nº 122-P de 19.3.1985, ambas do Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal (IBDF), órgão do Ministério da Agricultura (Brasil, 1981a; Brasil, 1985). A primeira normatiza a concessão de *Autorização Especial para realização de pesquisa destinada a fins exclusivamente científicos*, resguardando espécies em risco de extinção e tentando obter algum controle sobre as pesquisas nacionais e internacionais que ocorrem em áreas nativas brasileiras. Já a segunda Portaria estabelece normas ao registro de pessoas físicas ou jurídicas que consumam, explorem ou comercializem matérias-primas florestais. Em seu artigo 5º, por exemplo, há a classificação das pessoas sujeitas ao registro obrigatório no IBDF, onde constam as figuras do coletor e comerciante de plantas medicinais, aromáticas e tóxicas, extratores de resinas e gomas e mesmo de indústrias de medicamentos de origem vegetal e óleos essenciais. Estabelece também uma relação de obrigação entre a coleta de plantas medicinais e sua reposição respectiva por mudas de cada espécie coletada (art. 43 e 46). Avaliam-se estas Portarias como muito positivas no sentido de evitar a exploração predatória e a evasão de materiais; no entanto, são, ainda, muito pouco conhecidas e igualmente muito pouco aplicadas, problema agudizado pela conhecida fragilidade estrutural e de recursos humanos dos órgãos fiscalizadores do meio ambiente. Esta situação persiste ainda hoje (Brasil, 2000d; 2001d).

Outro documento interessante do início dos anos 80 é a Portaria DIMED nº 19 de 27.11.1981 (Brasil, 1981b). Sendo de redação muito concisa, esta Portaria determina critérios para obtenção de uma *Aprovação Preliminar de Produto Natural*, sem especificar o que ou a que se refere tal documento. Ressalte-se o aparecimento do termo *produto natural* na legislação, sem definição de seu significado.

Em 8.1.1982, o Ministério da Saúde emitiu a Portaria SNVS nº 5 que instituiu um *Certificado de Isenção de Registro de Produto* (Brasil, 1992). Igualmente de redação muito curta e pouco explicativa, esta Portaria dispunha-se a emitir um certificado que comprovasse o deferimento da isenção de registro. Não foram esclarecidas as dúvidas acima apontadas, mas já se demonstra a preocupação em definir-se a necessidade ou não de peticionar-se o pedido de isenção e a oportunidade de ter-se um número, expresso no certificado, que orientasse consumidores, comerciantes e a própria fiscalização.

O que se sabe, no entanto, é que nenhuma dessas duas Portarias teve implementação e não exerceu qualquer influência na dinâmica do mercado de fitoterápicos no Brasil, apesar de demonstrarem o início da preocupação em relação a esse tema.

Em 1986, são emitidas duas portarias relativas a plantas medicinais. A Portaria SNVS nº 19 (Brasil, 1986a) tornou obrigatório o registro na DINAL (Divisão Nacional de Vigilância Sanitária de Alimentos do Ministério da Saúde) das especiarias e ervas destinadas a infusões ou chás que não contivessem indicações terapêuticas nos rótulos. A segunda, Portaria SNVS nº 32 (Brasil, 1986b), instituiu definição, designação e características para distinguir as especiarias e ervas destinadas a infusões ou chás usando como critério a presença ou não de indicações terapêuticas nos rótulos. Aparentemente emitidas com intenção positiva, esses documentos foram criados sob pressão do aumento no número de pedidos de registro de produtos nos órgãos estaduais e federal de vigilância sanitária, conseqüente ao aumento no consumo de produtos de origem natural, e no contexto de total desconhecimento das normas anteriores. Partindo de um falso pressuposto técnico, qual seja o da ausência de indicações nos rótulos, o que não evita o consumo do produto estimulado pelo costume ou por propagandas diversas, e usando conceitos igualmente pouco precisos, como o de vegetais aromáticos, abriram-se as portas ao registro e à comercialização fácil de inúmeras espécies vegetais, a maioria sem qualquer relação com uso alimentício e mesmo não aromáticas, como, por exemplo, confrei, losna, catuaba, chapéu-de-couro, etc.

Em 1988 houve a emissão de algumas resoluções da CIPLAN - Comissão Interministerial de Planejamento - referentes à inclusão das práticas alternativas no sistema público de saúde. Dessas pode-se destacar a Resolução nº 4 sobre homeopatia (Brasil, 1988a) e a de nº 8 sobre fitoterapia (Brasil, 1988b). Conhecendo-se o clássico preconceito do sistema de saúde ortodoxo em relação a essas práticas em geral, tais resoluções são marcantes por demonstrarem um início de mudança de mentalidade nesse setor. Os seus efeitos, no entanto, não foram expressivos já que essas práticas não foram incluídas formalmente no sistema de saúde, salvo exceções pontuais em vários Estados, e a utilização pública das práticas alternativas ainda está para ser definitivamente concretizada.

As divergências na interpretação e na avaliação dos pedidos de registro de produtos de origem vegetal ocorridos nesse período, com possíveis consequências prejudiciais à saúde da população, levaram a comunidade científica a solicitar aos órgãos de vigilância sanitária a elaboração de regulamentação específica para o registro destes medicamentos.

No ano de 1989 ocorreu, em Curitiba (PR), uma reunião envolvendo técnicos das vigilâncias sanitárias dos Estados do sul do país, representantes da DIMED e DINAL do Ministério da Saúde e professores universitários. Na busca da atualização da Portaria nº 22/1967, chegou-se a uma proposta que, na prática, repetia o que se queria atualizar, ou seja, constituía-se numa reformulação muito parecida com o conteúdo da Portaria 22/1967. Apesar disso, a importância da reunião contribuiu ao resgate do interesse pelo assunto e também à revisão dos desvios ocorridos pelas Portarias de chás de 1986, principalmente o registro como alimento de espécies medicinais e mesmo algumas tóxicas, formulando-se um conjunto de diretrizes para esses casos e revertendo-se os registros anteriormente efetuados. Essas recomendações serviram de orientação para vários Estados que já procediam ao registro de alimentos de forma descentralizada (Brasil, 1989).

No ano de 1990 foram editados o Decreto nº 98830 do IBDF, de 15.1.1990, que dispôs sobre coleta, por estrangeiros, de dados e materiais científicos no Brasil, e a sua regulamentação, Portaria nº 55 de 14.3.1990 (Brasil, 1990a; 1990b). No ano de 1992, o IBAMA emitiu a Portaria nº 6-N de 15.1.1992, relacionando as espécies da flora brasileira ameaçadas de extinção (Brasil, 1992a). Nessa lista encontram-se várias espécies de uso medicinal, tais como *Astronium urundeuva* (Alemão) Engl. (aroeira), *Bowdichia nitida* Spruce ex Benth. (sucupira), *Costus cuspidatus* (Ness et Mart.) Maas (cana-do-brejo), *Dorstenia arifolia* Lam. (caapiá), *Pilocarpus jaborandi* Holmes (jaborandi), *Torresea acreana* Ducke (cumaru-de-cheiro) e outras. Tais normas complementaram as anteriores referentes ao controle na área florestal, embora até hoje sejam muito pouco aplicadas, como se pode verificar pela presença, no mercado cosmético brasileiro, de centenas de xampus contendo extratos de jaborandi, uma das espécies em risco de extinção que não poderiam estar sendo coletadas e comercializadas.

A assinatura da convenção da biodiversidade (Brasil, 1993a), que em termos básicos está contida na Constituição Brasileira, e a promulgação da lei das patentes (Brasil, 1996a) conduziram à regulamentação da proteção e do acesso ao patrimônio genético e ao conhecimento tradicional associado, aí incluídas as plantas medicinais (Brasil, 2000d; 2001d).

No ano de 1992 devem ser citados dois documentos específicos, porém relevantes: a Portaria SNVS nº 19 de 30.1.1992 (Brasil, 1992b) que proibiu o uso do confrei (*Symphytum officinale* L.) em preparações para uso interno, e a Resolução nº 19 - SESA/PR de 10.3.1992 (Brasil, 1992c) que suspendeu por tempo indeterminado a comercialização do cambará (*Lantana*

camara L.) tanto *in natura* como sob todas as formas farmacêuticas. Resultado de avaliações técnicas específicas referentes à toxicidade dos fitoterápicos, tais normas legais demonstram um amadurecimento no setor e abriram caminho para uma visão crítica geral dos medicamentos de origem vegetal, confrontando a falsa idéia de atoxicidade dos fitoterápicos. Apesar disso, tanto o cambará como o confrei continuam sendo utilizados na medicina popular e mesmo recomendados para uso interno por profissionais pouco criteriosos (Vigo et al., 2002).

Tais iniciativas tomam forma mais clara nos anos seguintes, com a elaboração de legislação estadual (Brasil, 1993c) e a formação de várias comissões técnicas pelo Ministério da Saúde. Nesse sentido, citam-se: a Portaria Ministerial nº 546 de 21.5.1993, que instituiu o Grupo Consultor Técnico-científico incumbido de estabelecer a normatização e o controle dos serviços, da produção, da armazenagem e da utilização de substâncias e produtos naturais; a Portaria nº 40 de 10.1.1994, que instituiu a subcomissão da Comissão Permanente da Farmacopéia Brasileira (CPRFB) para elaborar monografias de plantas medicinais; a Portaria nº 42 de 10.1.1994, nomeando a subcomissão da CPRFB para elaborar normas sobre fitoterápicos; a Portaria nº 43 de 10.1.1994, que instituiu Comissão Técnica de Integração Terapêutica e a Portaria nº 31 de 6.4.1994, que estabeleceu o Grupo de Estudos de Produtos Fitoterápicos, ligado à CRAME - Comissão Técnica de Assessoramento em Assuntos de Medicamentos e Correlatos (Brasil, 1993b; 1994a; 1994b; 1994c; 1994d). Esta Comissão foi substituída, em 1998 pela Subcomissão Nacional de Assessoramento em Fitoterápicos - CONAFIT (Brasil, 1998c), a qual teve sua composição alterada em 1999 (Brasil, 1999b).

Apesar de aparentemente conflitantes, o estabelecimento de tais comissões parecia expressar a consciência da necessidade de se regulamentar e reordenar o registro, a produção e a comercialização desses produtos, num mercado de características amplas e de baixa qualidade.

2. TENDÊNCIAS INTERNACIONAIS NA NORMATIZAÇÃO DE FITOTERÁPICOS

Em nível mundial, a situação legal de medicamentos fitoterápicos e de produtos derivados de plantas medicinais varia de país para país. Em alguns, a regulamentação está bem estabelecida, enquanto que em outros são vistos como alimentos, não sendo permitidas indicações terapêuticas. Nos países em desenvolvimento, porém, o uso generalizado de plantas medicinais, nos diversos níveis de atenção à saúde, baseado no emprego popular destes agentes terapêuticos ainda não encontra suporte regulamentador (World, 1998).

Buscando sugerir estratégias de implementação e harmonizar as normas legais entre os países, a Organização Mundial da Saúde vem editando, desde

1991, normas referentes aos diversos aspectos do emprego de plantas medicinais e de medicamentos fitoterápicos, e sua inclusão nos sistemas nacionais de atenção à saúde (World, 1999a; 2001). Em 2000 foram elaboradas as normas gerais para metodologias de pesquisa e avaliação de medicamentos tradicionais, que consideram como quatro as medidas fundamentais para garantir o acesso correto aos medicamentos fitoterápicos:

- estabelecimento de regulamentação e normas de registro;
- execução de sistemas de controle da qualidade;
- normatização do uso racional e
- implementação de sistemas de vigilância de reações adversas (World, 2000a; 2000b).

A situação atual do enquadramento legal dos produtos derivados de plantas medicinais está igualmente ligada a algumas peculiaridades nacionais. No Japão, por exemplo, paralelamente aos medicamentos fitoterápicos, que devem obedecer às mesmas normas de registro de medicamentos de prescrição e de venda livre, produtos advindos da medicina tradicional, *kampo*, mesmo que combinados com vitaminas e outros produtos farmacêuticos, são aceitos como suplementos alimentares, apresentando indicações terapêuticas, não sendo, todavia afeitos à legislação de registro de medicamentos (Saito, 2001).

Nota-se, no entanto, a prevalência de duas correntes distintas em termos de propostas de normatização da produção e comercialização de fitoterápicos, seguindo os modelos praticados nos Estados Unidos e na Europa.

2.1. Corrente americana

A primeira delas é representada pelo caminho americano de normatização. Os Estados Unidos começaram o controle dos medicamentos por uma lei do início do século XX, denominada de *1906 Food and Drug Act*. Essa norma veio a ser alterada pela *1938 Federal Food, Drug and Cosmetic Act*, a qual inicialmente requeria que todos os medicamentos vendidos naquele país apresentassem documentação sobre segurança. Após uma investigação extensiva promovida pelo Congresso Americano, essa segunda lei veio a ser alterada pela regulamentação que ficou conhecida como a *1962 Drug Amendments*, estabelecendo exigências de confirmação de dados sobre segurança e eficácia para todos os medicamentos comercializados após 1938. Com base nessa emenda, a agência FDA (*Food and Drug Administration*) passou a determinar a efetividade dos medicamentos no mercado, contando para isso com o apoio da Academia Nacional de Ciências Norte-americana, que elaborou um estudo sobre eficácia de medicamentos, submetido à FDA somente em 1969 (Tyler et al., 1988).

Assim, em 1972, o FDA completou essa avaliação e publicou no mês de agosto daquele ano uma relação de 415 fármacos de sete categorias de medicamentos de venda livre, considerados duvidosos em termos de segurança e

eficácia terapêutica, desencadeando a eliminação dos produtos respectivos. Dessa lista constam inúmeros fitoterápicos e drogas vegetais, tais como: camomila, canela, gengibre, hidraste, hortelã-pimenta, entre outras preconizadas como digestivas; alfafa, aloe, cimífuga, genciana, alcaçuz, junípero, noz-moscada e outras indicadas como controladores da menstruação, além de um número variado de outras espécies (Mancini, 1995).

Desse período em diante, ocorre a eliminação dos produtos fitoterápicos das prateleiras das farmácias; em paralelo, no entanto, ocorria a progressiva mudança de conceitos de hábitos que tem levado à aceitação cada vez maior dos produtos de origem natural ou biológica, nos EUA referidos como *health foods* (alimentos salutarés), que deslocaram-se para os estabelecimentos comerciais próprios, os *health foods stores* (casas de produtos nutricionais). Essa característica, que representa o anseio popular de consumir tais produtos, levou o Congresso Americano à discussão e à aprovação, num prazo recorde de oito meses e após um volumoso envio de correspondências da população, como não ocorria desde a guerra do Vietnã, de uma nova lei, abrindo outra categoria de produtos onde esses *health foods* pudessem ser classificados. Edita-se a *Dietary Supplement Health and Education Act* (DSHEA) em 15.11.1994, a qual permite o registro de produtos à base de plantas como *dietary supplements* (suplementos nutricionais) sem nenhuma informação ou declaração de eficácia terapêutica nas rotulagens. Noutro aspecto, essa lei estabelece que o FDA deve provar que uma planta é tóxica antes de decidir por sua retirada do mercado (Tyler, 1996).

Em termos de Brasil, essa forma de organizar o mercado americano tem trazido diversos problemas, pois, desafortunadamente, a norma brasileira em vigor para alimentos, Decreto-lei nº 986 de 21.10.1969 (artigos 57 e 58), permite a entrada no país, sem registro, de alimentos importados em suas embalagens originais (Brasil, 1979). Essa posição tem conduzido à entrada no Brasil de centenas de *dietary supplements* que aqui são comercializados efetivamente como medicamentos, mas não obedecem às normas brasileiras dessa classe de produtos. Em termos legais, tentou-se solucionar essa lacuna quando da criação da Agência Nacional de Vigilância Sanitária pela Lei nº 9782, de 26 de janeiro de 1999 (Brasil, 1999a). Em seu artigo 42º, a Lei 9782 alterou o artigo 57º do Decreto-Lei nº 986/1969, submetendo, às suas exigências, a importação de alimentos, aditivos e outras substâncias relacionadas o que amplia a possibilidade de intervenção mais efetiva nesse problema envolvendo fitoterápicos importados como alimentos. No entanto, a aplicação prática desse expediente ainda deixa muito a desejar.

2.2. A corrente européia

No contexto da União Européia (UE), existem diretrizes que exigem aprovação prévia de comercialização nos vários países segundo a regulamentação pró-

pria, tais como as Diretivas de Conselho 65/65/CEE, 75/18/CEE e a 91/507/CEE sobre documentação de qualidade, segurança e eficácia (Roque e Cunha, 1997). A preocupação sobre este tema conduziu, em 1995, à reunião do Conselho dos Ministros para examinar a situação dos medicamentos de origem vegetal no contexto da União Europeia buscando a harmonização das legislações dos países membros (tab. 1) (Bundesfachverband, 2000). Com a edição das orientações da OMS para fitoterápicos (Organización, 1991), os vários países revisaram suas normas e elaboraram esquemas próprios de regulamentação (Association, 2000).

TABELA 1
Legislações nacionais européias com implementação da Diretiva
do Conselho 65/66/EEC na área de produtos fitoterápicos.

País	Legislação nacional
Alemanha	Lei dos Medicamentos, 1976
Áustria	2º complemento da Lei dos Medicamentos, 1994
Bélgica	Decreto Real de 3.7.1969 e Circular Ministerial de 12.12.1997
Dinamarca	Lei dos Medicamentos, 1997
Espanha	Lei dos Medicamentos, 1990
Finlândia	Ato sobre Medicamentos nº 395, 1987
França	Código de Saúde Pública
Grécia	Lei dos Medicamentos, 1985
Holanda	Lei dos Medicamentos
Irlanda	Legislação das Preparações Medicamentosas
Itália	Decreto Legislativo de 25.1.1991
Portugal	Decreto-Lei nº 353, 1993
Reino Unido	Ato dos Medicamentos, 1968
Suécia	Ato dos Produtos Medicinais, 1992

Fonte: Association, 2000.

Entre os modelos nacionais existentes, destacam-se, por suas peculiaridades, os caminhos adotados particularmente pela Alemanha e os adotados diversamente pelos outros países.

O esquema legal adotado na Alemanha segue a Lei dos Medicamentos (*Arzneimittelgesetz* - AMG) de 24 de agosto de 1976, na sua sexta emenda de dezembro de 1990 (Steinhoff, 2000). Nessa lei exige-se que os medicamentos fitoterápicos atendam aos mesmos requisitos de qualidade, segurança e eficácia que os medicamentos contendo fármacos sintéticos, necessitando de registro oficial (Keller, 1991). Esses registros tem sido emitidos com base no seguinte esquema de possibilidades:

a) através de procedimentos de avaliação e validação de produtos tradicionais: esses procedimentos foram realizados por uma comissão de especialistas (Comissão E), com base nos dados bibliográficos disponíveis chegando-se até à elaboração de uma monografia da droga vegetal, citando também o produto respectivo. Definiu-se que os produtos registrados até 1978 teriam uma autorização provisória de comercialização, válida até abril de 1990, período no qual os procedimentos acima seriam executados. Vale ressaltar que a lei alemã permite que se considere como fonte bibliográfica também outras formas de documentação, como, por exemplo, coleção de casos clínicos. No entanto, há a necessidade de reforçar-se o uso tradicional, por exemplo, com estudos clínicos posteriores.

b) autorização de comercialização padronizada: envolve casos de produtos provados como não causadores de riscos à saúde, os quais podem ser liberados da necessidade de autorização específica em função da existência de monografias padronizadas que devem ser devidamente seguidas.

c) registros individuais de produtos estudados clinicamente: seguem a metodologia científica usual e permitem registro próprio como medicamento. Envolvem a apresentação de documentação completa (testes analíticos, resultados farmacológicos e toxicológicos e testes clínicos).

Os resultados dessa metodologia são hoje reconhecidamente os mais importantes em todo o mundo, pela produtividade que conseguiu imprimir à fitoterapia em geral. A Comissão E chegou a elaboração de mais de 400 monografias, tanto positivas quanto negativas, que orientam atualmente o mercado alemão e já foram traduzidas para o inglês pelas claras possibilidades de orientar todos os países que utilizem produtos com as plantas envolvidas nesse processo (Blumenthal et al., 1997).

Em relação aos outros países europeus, a situação é variada passando por esquemas comuns a medicamentos de síntese e fitoterápicos, como na Áustria e listas positivas para um número limitado de espécies na França (Artiges, 1991) e na Finlândia. A tabela 2 expressa a situação nos diversos países membros da UE no tocante à legislação de fitoterápicos.

A quase totalidade dos países da UE classifica como medicamentos fitoterápicos aqueles produtos que possuem componentes ativos de origem vegetal que pretendem ser comercializados com indicações terapêuticas (tabela 2). As políticas nacionais de medicamentos distinguem, entretanto, outros produtos, desprovidos desta qualidade, tais como drogas rasuradas, medicamentos officinais e magistrais, ou contidos em listas especiais ou ainda suplementos dietários, e apresentam regulamentações específicas. A composição destes produtos também é considerada por normas específicas nacionais. A grande maioria aceita, como medicamentos fitoterápicos, somente aqueles produtos compostos por constituintes vegetais sem permitir a presença de substâncias ativas isoladas ou de preparados homeopáticos, mesmo que de origem vege-

TABELA 2
Alguns aspectos da situação regulatória de medicamentos
fitoterápicos nos países membros da União Europeia

País	Classificação ¹	Associação a produto homeopático	Documentação de registo ²	Fármaco-vigilância	Notificação dos usuários	GDP ³	GMP ⁴
Alemanha	+	+	T/L	+	+	+	+
Áustria	+	+	T	+	+	+	+
Bélgica	+	-	T	+	+ ⁵	+	+
Dinamarca	+	n.d.	T/B	+	+ ⁵	+	+
Espanha	+	n.d.	T/B	+	+ ⁵	+	+
Finlândia	L	+	T/B	+	-	+	+
França	+	-	T/B	+	+ ⁵	+	+
Grécia	+	-	T	+	+	+	+
Holanda	+	+	T	+	+ ⁵	+	+
Irlanda	+	+	T	+	+ ⁵	+	+
Itália	+	-	T/B	+	+	+	+
Luxemburgo	+	-	⁶	+	+	+	+
Portugal	+	n.d.	T	-	+	+	+
Reino Unido	+	n.d.	T	+	+ ⁵	+	+
Suécia	+	n.d.	T	+	+	+	+

¹ De acordo com o artigo 1º da Diretiva do Conselho 65/65/EEC, produtos com indicações terapêuticas são considerados medicamentos;

² Comprovação da qualidade, segurança e eficácia pode ser feita através da realização de testes (T), documentação bibliográfica (B) ou empregando listas positivas (L).

³ As boas práticas de distribuição (*Good Distribution Practice*) normatizam as atividades dos distribuidores de produtos de origem vegetal de emprego terapêutico, de acordo com a Diretiva do Conselho 92/25/EEC.

⁴ Aplicação das boas práticas de fabricação (*Good Manufacturing Practices*) de acordo com a Diretiva do Conselho 75/319/EEC.

⁵ As notificações somente são aceites se validadas por profissional da área da saúde ou então elaboradas por estes profissionais.

⁶ Aceita a documentação de registo dos demais países da União Europeia.

n.d. = não disponíveis

tal. A detecção de efeitos não desejados de medicamentos fitoterápicos é regulamentada em quase todos os países membros, com algumas diferenciações operacionais locais, mas, em todos os casos está inclusa no sistema de farmacovigilância. A notificação de efeitos não desejados por parte dos usuários destes medicamentos é considerada essencial na detecção de desvios da segurança de uso. No entanto, enquanto que alguns países aceitam a notificação vinda diretamente do consumidor, em outros há necessidade da intervenção de profissionais da saúde, seja para validar o documento ou, até mesmo, elaborá-lo, de acordo com as normas específicas.

Os critérios de qualidade na cadeia produtiva são similares em todos os membros da UE. Tanto as boas práticas de distribuição, que regulam as atividades do sistema de distribuição no atacado de matérias-primas, produtos intermediários e produtos finais (GDP - *Good Distribution Practice*), como as boas práticas de fabricação (GMP - *Good Manufacturing Practices*) estão completamente implementadas. O único elo faltante da cadeia, relativo aos requisitos de cultivo, as boas práticas agrícolas (GAP - *Good Agricultural Practice*), foram sugeridas muito recentemente para que possam ter sido efetivamente incorporadas (European, 1999b).

3. O ESTABELECIMENTO DE LEGISLAÇÃO BRASILEIRA PARA A ÁREA

3.1. A Portaria SVS nº 6/1995

Desde 1972, com a tentativa de revisão da Portaria nº 22/1967 e pela lacuna deixada pela Lei nº 6360/1976, sentiu-se a necessidade de atualização da legislação brasileira de fitoterápicos. Em vista disso, diversas propostas nesse sentido foram sendo elaboradas (Fundação, 1994).

A constituição do Grupo de Estudos de Produtos Fitoterápicos (GEPFITO), através da Portaria SNVS nº 31 de 6.3.1994 (Brasil, 1994b), foi proposto pela CRAME no contexto típico da vigilância sanitária juntamente com diversos outros subgrupos que estavam procedendo à revisão do arsenal terapêutico nacional (ex.: hepatoprotetores, antidiarréicos). Posteriormente, sua composição e funções foram alteradas pela Portaria SNVS nº 125 de 1.12.1995 (Brasil, 1995d), sendo substituída pela CONAFIT em 1998 (Brasil, 1998c) e, novamente, modificada sua composição em 1999 (Brasil, 1999b). O primeiro resultado dos trabalhos do GEPFITO foi a publicação de normatização de registro de produtos fitoterápicos por meio de uma proposta aberta à consulta pública, possibilitando o questionamento e participação de todos os setores da Sociedade, contida na Portaria SNVS nº 123 de 19.10.1994 (Brasil, 1994e).

Da avaliação das sugestões apresentadas definiu-se pelo formato final da norma. Esta veio a ser publicada no ano seguinte, através da Portaria SVS

nº 6 de 31 de janeiro de 1995 (Brasil, 1995a). Seu conteúdo envolve basicamente os seguintes pontos:

a) a explicitação inequívoca do conceito de fitoterápico como medicamento preparado exclusivamente por matérias ativas oriundas de plantas medicinais e obedecendo integralmente aos requisitos técnicos para a preparação farmacêutica e o uso terapêutico;

b) a padronização dos conceitos e termos técnicos próprios da área, inclusive introduzindo na legislação brasileira as modernas orientações de produção e controle de fitoterápicos, tais como as referentes a marcadores químicos de qualidade ou o de preparado fitoterápico intermediário;

c) o estabelecimento padronizado, para qualquer fitoterápico, do atendimento aos critérios de segurança e eficácia, nos moldes farmacológicos adequados (toxicologia aguda e crônica, farmacologia pré-clínica e clínica);

d) a fixação de normas de qualidade, tanto para a matéria-prima e processamento assim como para o produto final, devendo a empresa desenvolver as técnicas necessárias ao conseguimento desse objetivo, apresentando essas informações na petição de registro, subsidiando dessa forma, inclusive, o controle de qualidade fiscal.

Esperava-se, com a edição dessa norma, eliminar as lacunas da legislação anterior e definir os rumos para os produtos fitoterápicos no mercado brasileiro. Duas grandes questões, no entanto, permaneciam:

- o que fazer com os milhares de produtos naquele momento sendo comercializados, alguns registrados há mais de cem anos, os quais não teriam condições de atender àqueles requisitos da Portaria 6 e caminhariam para o indeferimento de seu registro, e

- como resolver a problemática das centenas de produtos cujas petições de registro encontravam-se, há vários anos, protocoladas na Secretaria de Vigilância Sanitária, situação que deu motivos para o seu lançamento ao mercado de forma irregular, embora fosse clara sua insuficiência, na maioria, no atendimento das novas exigências legais.

Toda essa situação levantou a questão das propostas internacionais de flexibilização das legislações sanitárias de controle de medicamentos. A Organização Mundial de Saúde, ao emitir recomendações aos países membros quanto a critérios legislativos de avaliação farmacêutica de medicamentos herbários (Organización, 1991), contemplou o *conceito de tradicionalidade de uso* como subsídio para comprovação da inocuidade e da eficácia destes produtos. O enquadramento nesse critério possibilitaria o registro e comercialização de fitoterápicos sem o desenvolvimento formal dos requisitos usuais para medicamentos, desde que baseado em documentação aceitável. Recomendou, também, a organização dos organismos de regulamentação para detectar possíveis efeitos adversos desses produtos e aplicação às medidas correspondentes, caso fossem necessárias, desde a retirada do mercado até a restrição de uso.

Apesar da sua aplicação variável em alguns países (Colômbia, 1993), o GEPFITO decidiu pela não aceitação dessa recomendação como parte integrante daquela legislação em implantação. Os motivos dessa atitude foram:

- consideração da inexistência, no Brasil, de relatos escritos cientificamente aceitáveis que servissem de base concreta para a comprovação desse uso tradicional e como testemunho de inocuidade e eficácia, quando comparados àqueles países mais tradicionais em fitoterapia, como Índia e China que detêm documentação escrita de mais de 2000 anos nessa área;

- reconhecimento da fragilidade brasileira em termos de detecção de efeitos colaterais e reações adversas de medicamentos em geral, decorrente da falta de tradição médica nessa atividade e da inexistência de sistemas oficiais ou não de farmacovigilância. Esta constatação pode ser exemplificada pela história do uso do confrei (*Symphytum officinale* L.) no Brasil e da incapacidade do sistema de saúde em detectar os conhecidos efeitos hepatotóxicos dessa planta, já descritos na literatura no início dos anos 80 (Garret et al., 1982; Schilcher, 1982) e somente aceitos no Brasil pela sua proibição em 1992 (Brasil, 1992b), ou ainda, na permanência, no mercado, de outras plantas sabidamente tóxicas, como as pertencentes ao gênero *Aristolochia*, responsáveis por efeitos nefrotóxicos, carcinogênico e mutagênico (European, 2000);

- reconhecimento também das dificuldades políticas e estruturais da vigilância sanitária brasileira em todos os níveis, o que praticamente obstaculiza a intervenção mais sistemática no mercado de medicamentos, como sugere a própria OMS na sua proposta de reconhecimento da tradicionalidade (Petrovick et al., 1999).

Por outro lado, a proposta da OMS busca conciliar a necessidade de se implantar algum critério de controle a esse segmento, através do conceito de tradicionalidade, com o estímulo à oferta de medicamentos de mais fácil acesso e com maiores níveis possíveis de segurança e eficácia, geralmente direcionados aos países em desenvolvimento. Medicamentos fitoterápicos inserem-se neste contexto pela facilidade de obtenção da matéria-prima, geralmente local, e pela forte relação cultural entre a população e esses produtos, o que aumenta a adesão terapêutica (World, 2001b).

No entanto, a singularidade do quadro brasileiro afasta-se dos termos colocados pela OMS, pois as indústrias que atuam nesse mercado geralmente produzem há décadas fitoterápicos com pouca inovação tecnológica, com preços equivalentes aos de medicamentos de síntese, com esquemas de propaganda de mecanismos indutores de venda, com ampliação, muitas vezes de modo irracional, das indicações terapêuticas, desse modo fornecendo produtos com características e indicações bem diferentes das preconizadas tradicionalmente, obrigando o sistema de vigilância sanitária a lançar mão de mecanismos regulamentadores da publicidade (Brasil, 2000c; 2001b).

Portanto, ao manter a linha geral, sem exceções para os aspectos de segurança, eficácia e qualidade, mas reconhecendo as dificuldades dos produtos já comercializados em atender a esses requisitos, a legislação brasileira propunha um esquema de transição entre o período anterior, de exigências quase inexistentes e legislação confusa, e o posterior, de exigências técnicas muito claras e pertinentes a qualquer tipo de medicamento (Calixto, 2000), definindo prazos para essa transição entre os dois períodos.

Baseada nos termos da Lei nº 6360/1976, que estabelece o prazo de vigência de um registro de medicamento, a Portaria nº 6/1995 fixou um interstício máximo de 5 anos para a comprovação da segurança através da realização de testes toxicológicos pré-clínicos e clínicos. Os produtos que apresentassem segurança em nível aceitável ao uso proposto teriam seus registros renovados adicionalmente por no máximo outros 5 anos, para a realização das avaliações farmacológicas e terapêuticas das suas indicações. Quanto ao início da validade desses prazos, optou-se pela uniformização da vigência dos registros de fitoterápicos emitidos, a partir da data de publicação da Portaria nº 6/1995 de 6.2.1995 até 5.2.2000. Já em relação aos produtos com petições protocoladas na Secretaria de Vigilância Sanitária, a vigência dos prazos citados somente poderia ocorrer quando a petição de registro fosse deferida e publicada em diário oficial, não havendo condições legais de considerar a data de publicação da Portaria como início de vigência para estes protocolos.

Como nesse período de 10 anos os produtos registrados continuariam sendo comercializados fixou-se a exigência da inscrição em rótulos e bulas de uma frase que alertasse pacientes, dispensadores e prescritores de que aquele produto estaria passando por uma fase de avaliação técnica. Dessa forma, os envolvidos poderiam avaliar melhor a oportunidade efetiva de se iniciar ou continuar com aquela terapêutica de forma consciente. Deste modo, a partir de 6 meses após a vigência da Portaria, deveriam estar presentes nas bulas e na rotulagem de produtos fitoterápicos dizeres informando que o produto encontrava-se em fase de estudo para avaliação científica das indicações terapêuticas e da toxicidade e que o uso deste produto estaria baseado em indicações tradicionais.

No entanto, levantamento feito em 105 produtos fitoterápicos de 60 empresas, comercializados em São Paulo em junho de 1996, portanto quase um ano após o fim do prazo legal de correção das rotulagens, mostrou que apenas 8 produtos (7,6%) tinham atendido àquela exigência (Marques, 1996).

3.2. A Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) ANVISA nº 17/2000

A edição da Portaria SVS nº 6/1995 desencadeou, em todo o mercado fitoterápico, uma forte reação, oriunda principalmente do setor produtivo. Essa reação barrou a implementação da norma e forçou politicamente a sua revi-

são e flexibilização. Assim, desde janeiro de 1995, tem-se discutido e buscado fórmulas para flexibilizar a norma sanitária brasileira para fitoterápicos, tentando-se contemplar os diversos interesses dos segmentos envolvidos e respeitando a saúde dos consumidores.

Como passo inicial dessa revisão, a CONAFIT, designada em substituição ao GEPPITO (Brasil, 1998c), editou, sob a forma de consulta pública, da Portaria SVS nº 1029 de 20.12.1998 (Brasil, 1998e), a qual inovou, com a incorporação do conceito de "fitoterápicos tradicionais", como via de flexibilização da norma anterior. O prazo para apresentação de sugestões aquele documento foi prorrogado seguidamente (Tondo, 1999; Tondo e Petrovick, 1999; 2000) tendo sido realizadas, neste interregno, audições públicas, com participação de diversos segmentos da sociedade. A reestruturação do Sistema Nacional de Vigilância Sanitária e a fundação da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVS) (Brasil, 1999a) contribuíram também para a demora na finalização da nova norma de registro de produtos fitoterápicos.

A questão central das mudanças – a definição de fitoterápicos tradicionais – trouxe muita expectativa, pois os outros aspectos da norma ficaram muito semelhantes à anterior. A sugestão apresentada, no entanto, incluía uma lista de produtos, organizada pelo órgão federal, contendo, apenas 13 plantas, 11 delas para a preparação extemporânea (infusões e decocções) e 2 sob forma farmacêutica gel/pomada.

A Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) nº 17/2000, resultante destas discussões, classificou os medicamentos fitoterápicos, para fins de registro, em três categorias:

a) Medicamento fitoterápico novo: *aquele cuja eficácia, segurança e qualidade, sejam comprovadas cientificamente junto ao órgão federal competente, por ocasião do registro, podendo servir de referência para o registro de similares;*

b) medicamento fitoterápico tradicional: *aquele elaborado a partir de planta medicinal de uso alicerçado na tradição popular, sem evidências, conhecidas ou informadas, de risco à saúde do usuário, cuja eficácia é validada através de levantamentos etnofarmacológicos e de utilização, documentações técnico-científicas ou publicações indexadas;*

c) medicamento fitoterápico similar: *aquele que contém as mesmas matérias-primas vegetais, na mesma concentração de princípio ativo ou marcadores, utilizando a mesma via de administração, forma farmacêutica, posologia e indicação terapêutica de um medicamento fitoterápico considerado como referência (Brasil, 2000b).*

As formas para a efetivação do registro de medicamentos fitoterápicos tradicionais foram elaboradas com três possibilidades, expressas no item 3 da Resolução:

a) inclusão do produto na listagem das 13 plantas tradicionais, ressal-

tando-se a possibilidade de elaboração de produtos com diversas formas farmacêuticas preparadas a partir das formas extrativas propostas nessa lista (infuso, decocto, tinturas, etc.);

b) produtos cuja inclusão em diversas bibliografias (citadas no anexo II) levaria à pontuação mínima de 6 pontos, permitindo sua aceitação como tradicional;

c) na impossibilidade de aplicação dos itens anteriores, o produto poderia ser apresentado com levantamento bibliográfico amplo, visando submeter-se às recomendações gerais da OMS para produto tradicional (uso pontual, patologias leves e preventivas, ausência de relatos de toxicidade).

A listagem de produtos tradicionais contém apenas treze itens, envolvendo plantas européias e constantes da totalidade de referências de boa qualidade, várias delas já submetidas a ensaios clínicos, com margem de segurança e eficácia estabelecidas. É um avanço importante, pois reflete a consideração oficial de que vários produtos fitoterápicos possuem conhecimentos suficientes para sua consideração e registro, sem maiores questionamentos.

Chamam a atenção, no entanto, alguns detalhes. Por exemplo, a planta alcachofra é indicada como “hepatoprotetor”, conceito farmacológico já oficialmente questionado e que foi proposto ser banido ou muito restringido. Os dados farmacológicos da alcachofra confirmam seus efeitos colerético/colagogos, porém não como hepatoprotetor nos termos das portarias nº 90 e 91 (Brasil, 1994f, g), o que parece um erro e deveria ser corrigido ou, no mínimo, não atendido em termos de indicações aprovadas.

Outro aspecto a considerar são as indicações do gengibre. Os efeitos antináusea estão bem avaliados, inclusive clinicamente (Ernst e Pittler, 2000), mas há outros usos tradicionais igualmente consistentes (ex.: antiinflamatório, antibacteriano e gastroprotetor) (Mascolo et al., 1989; Srivastava e Mustafa, 1992; Al-Yahya et al., 1989) que poderiam constar conjuntamente com o constante da listagem.

Com relação à existência de conhecimentos em obras de referência, foram cogitados três níveis ou grupos, de acordo com a profundidade das mesmas, ponderando-as com diferentes valores.

Grupo I (3 pontos)

Buscou-se, neste item, padronizar literaturas de bom padrão e cujo conteúdo refletisse as preocupações voltadas às atividades de registro de produtos. É o que representam as obras desse grupo, isto é, são obras elaboradas e editadas ou por órgãos governamentais (ex.: Comissão E do governo alemão) ou instituições supragovernamentais com grande credibilidade (ex.: OMS ou ESCOP). O conteúdo desses livros envolve mais de 300 monografias positivas, sendo que, no caso da obra alemã, também 127 monografias negativas, isto é, cujos dados disponíveis ou não permitem o endosso das indicações

populares ou mostraram resultados negativos, em ambos os casos levando a essa classificação negativa (ex.: monografia negativa para as folhas de *Ginkgo biloba* L.) (Blumenthal et al., 1998).

Grupo II (2 pontos)

Este grupo procurou seguir a mesma idéia de emprego de obras de referenciamento não oficiais ou de compilação. É como se entendem as obras editadas pela British Herbal Medicine Association e do American Botanical Council, entidades associativas de representatividade nacionais, e a farmacopéia caribenha (Germosén-Robineau, 1995), esta última como forma de contemplar plantas medicinais usadas nos países centro-americanos e que pertençam também à flora existente no Brasil (ex.: *Guazuma ulmifolia* Lam. – mutamba; *Kalanchoe pinnata* (Lam.) Pers – folha-gorda; *Phyllanthus niruri* L. – quebra-pedra). A referência francesa (Brasil, 2000b) é oficial, e foge, a priori, dessa classificação inicialmente estabelecida. Este grupo de referências abrange cerca de 170 monografias.

Ainda dentro desse item, a Resolução 17/2000 incluiu uma opção de *monografias com informações etnofarmacológicas e/ou dados de estudos pré-clínicos e clínicos, realizadas por pesquisadores credenciados pelo CNPq ou equivalente*, o que vem ao encontro do desenvolvimento de uma base científica no País.

Grupo III (1 ponto)

Este grupo envolve vários tipos de obras, desde oficiais (Argentina, 1999), três livros de larga difusão, embora não oficiais como o PDR (1998), até duas outras obras envolvendo espécies presentes na flora brasileira (Gupta, 1995; Matos, 1999). Estas duas referências finais foram sugeridas como forma de não restringir somente às plantas européias, e envolvem mais de 600 espécies, muitas delas brasileiras (tabela 3).

Vale lembrar que os medicamentos derivados dos vegetais constantes deste grupo necessitam de outras referências ou estudos próprios para validar o seu registro.

Grupo IV (0,5 ponto)

A Resolução 17/2000 abre, ainda, a possibilidade de serem aceitas outras referências esparsas, para espécies não citadas anteriormente ou como forma de complementação dos pontos necessários para sua consideração como medicamento fitoterápico tradicional. Assim, cada referência bibliográfica nacional ou internacional, técnico-científica, de bom padrão e referente à espécie e à forma extrativa correspondente à do produto, valerá 0,5 ponto. Pode-

TABELA 3
 Alguns exemplos de espécies utilizadas no Brasil
 citadas como plantas medicinais de uso iberoamericano

Nome botânico	Nome popular
<i>Acanthospermum australe</i> (Loefl.) Kuntze	espinho-de-cigano, carrapicho
<i>Achyrocline satureioides</i> (Lam.) DC.	marcela
<i>Ageratum conyzoides</i> L.	mentrasto
<i>Baccharis articulata</i> (Lam.) Pers.	carquejinha
<i>Baccharis trimera</i> (Less.) DC.	carqueja
<i>Bowdichia virgilioides</i> Kunth.	sucupira
<i>Casearia sylvestris</i> Sw.	guaçatonga, erva-de-bugre
<i>Copaifera langsdorffii</i> Desf.	copaíba
<i>Equisetum giganteum</i> L.	cavalinha
<i>Justicia pectoralis</i> Jacq.	chambá
<i>Limonium brasiliense</i> (Boiss.) Kuntze	baicuri
<i>Luffa operculata</i> (L.) Cogn.	buchinha, cabacinha
<i>Phyllanthus sellowianus</i> (Klotzsch) Müll. Arg.	quebra-pedra
<i>Polygonum punctatum</i> Elliott	erva-de-bicho
<i>Sonchus oleraceus</i> L.	serralha
<i>Uncaria tomentosa</i> (Willd. ex Roem. et Schult.) DC.	unha-de-gato

Fonte: (Gupta, 1995)

se, deste modo, associar a presença nos livros acima e completar-se os 6 pontos com artigos isolados, atingindo-se a pontuação exigida.

Ainda nesta classe são atribuídos 6 pontos a fitoterápico tradicional estudado clinicamente quanto aos requisitos de eficácia e segurança em centros credenciados, o que pode ser visto como uma forma de estímulo à aproximação entre os setores empresariais e acadêmico.

Nos casos de produtos não constantes de nenhum dos casos anteriores, resta a possibilidade de tentar comprovar a tradicionalidade pela aplicação dos requisitos apontados pela OMS (World, 2000a) e aceitos pela RDC 17/2000, quais sejam:

a) apresentação de levantamento bibliográfico o mais amplo possível, que confirme o emprego tradicional (ver capítulo “Etnofarmacologia como ferramenta na busca de substâncias ativas”);

b) comprovação da amplitude de uso, cronológica e geográfica, que demonstre coerência nas indicações; que não tenham ocorrido casos de toxicidade ou estes sejam restritos, leves ou causados por uso inadequado do produto;

c) demonstraco da ausência de grupos químicos de risco. Como regra geral, pode-se considerar de risco os grupos de alcalóides, heterosideos cianognicos, cumarinas ou outros que a literatura aponte como citotóxico, mutagênico, etc. (ver capítulos "Farmacologia e toxicologia de produtos naturais" e "Plantas tóxicas");

d) limitação das indicações do produto a patologias leves ou de caráter profilático, como expectorante, digestivo, analgésico, antipruriginoso, antioxidante, etc. Não se encaixam nesse conceito fitoterápicos com indicações para doenças crônicas ou para patologias graves, como antipertensivos, antidiabéticos, anticancerígenos, imunoestimulantes, antidepressivos, etc.;

e) comprovação do uso seguro do medicamento fitoterápico por período de 10 anos ou mais.

Além dos pontos referentes ao registro, essa norma trouxe outras pequenas modificações em relação à portaria anterior, os quais vale a pena apontar.

a) Aspectos de controle de qualidade

Na parte de testes de pureza e integridade, retirou-se a exigência de testes de agrotóxicos. Manteve-se a necessidade de validação de métodos de eliminação de contaminantes (pesquisa de eventuais alterações na matéria-prima), principalmente no caso das drogas vegetais irradiadas. Sabe-se que esse procedimento é importante, envolve grande percentual do mercado, não deixa resíduos, mas apresenta o inconveniente de produzir alterações químicas, que precisam ser avaliadas posteriormente como forma de validar o método (Diding et al., 1973).

b) Espécies nativas

Deve-se destacar, ainda, a questão da utilização de espécies nativas. Exige-se documentação do fornecedor, com destaque à origem do material e autorização dos órgãos de meio ambiente no sentido do uso sustentado e preservação de recursos genéticos, aceitando-se plano de manejo e/ou cultivo racional. Exigências semelhantes constavam da Portaria n 6, mas pouco foi feito para seu cumprimento. Em vista disso, definiu-se a vigência deste item apenas a partir de fevereiro de 2002, prazo que permite algum planejamento esperando-se que alguma solução venha a ser dada em relação às centenas de espécies nativas brasileiras amplamente empregadas em medicamentos.

3.3. As portarias sobre isenção de registro

Como visto anteriormente, esse ponto  um dos mais polmicos e problemáticos da legislação de medicamentos do Brasil. O GEPFITO avaliou o tema e concluiu que, devido às particularidades inerentes aos produtos fitoterápicos e  caducidade de norma existente, tal como a Portaria DNS n 52/1943 (Brasil, 1943a), que se embasa em códigos oficiais e obras de referência completamente desatualizadas, a normatização vigente estava totalmente inadequada.

Apesar de tais ponderações, a Portaria nº 6/1995 teve de adequar-se ao prescrito na Lei nº 6360/1976 e incluir necessariamente itens normatizadores da isenção de registro. No entanto, buscou-se uma forma de equacionar o problema, mantendo a possibilidade de isenção de registros para drogas vegetais e produtos farmacopéicos, porém restringindo esse expediente apenas às informações efetivamente constantes das monografias oficiais. O que lá não existir, tais como dados de toxicidade, eficácia e controle de qualidade da forma farmacéutica, por exemplo, devem ser comprovadas pela empresa interessada a anexar à petição de isenção de registro.

Tal formulação procurou expressar o entendimento técnico e legal de que não se poderia isentar um produto da existência de informações que são cruciais ao conhecimento da relação risco/benefício e ao seu controle. Complementarmente, como a isenção envolve várias classes de medicamentos além dos fitoterápicos, essa formulação conceitual transformou-se em norma própria, com a edição da Portaria SVS nº 81 de 13.9.1995 (Brasil, 1995b).

Assim, além do conceito principal exposto acima, incluíram-se também, nessa Portaria, as seguintes determinações:

a) a necessidade de se formalizar o pedido de isenção, isto é, esclarecendo-se que o direito legal demanda a verificação da aplicação dos requisitos necessários para isso, dessa forma procurando-se minimizar os procedimentos de *auto-isenção* que freqüentemente se verificam no mercado;

b) a definição de um cadastramento numerado para os produtos isentos, que deve constar da rotulagem e das bulas, assim orientando consumidores, comerciantes e a própria vigilância sanitária encarregada da fiscalização dos medicamentos;

c) o reforço à necessidade de bulas, em função da confusão estabelecida de que os produtos isentos de registro estariam dispensados desta exigência, o que corresponde a resquícios das normas antigas e é atualmente inadequado tanto do ponto de vista técnico quanto legal, inclusive em relação ao Código de Defesa do Consumidor.

Por outro ponto de vista, além da regulação do mercado, esse aspecto da isenção mostrou potencial importância na implantação de uma política de medicamentos fitoterápicos no Brasil. De fato, ficou claro desde logo que as Portarias nº 6/1995 e nº 116/1996 acarretariam problemas para empresas ou programas público e filantrópico não dotados de infra-estrutura adequada. Na sequência, a legislação procurou alguma forma de auxiliar o desenvolvimento desses segmentos. Isso foi feito através da reestruturação do GEPFITO, com a incorporação de novos membros e estabelecendo-se uma nova e importante diretriz de trabalho: a elaboração de monografias para a composição de *Formulário Nacional de Fitoterápicos*, através da edição da Portaria SVS nº 125 de 1.12.1995 (Brasil, 1995d).

A promessa de elaboração de um formulário, isto é, de um compêndio

oficial mais voltado a formulações e não exclusivamente a matérias-primas, é promessa antiga desde a publicação da segunda edição da Farmacopéia Brasileira. No caso dos fitoterápicos, pretendeu-se dar condições de se publicar em diário oficial monografias completas de produtos fitoterápicos acabados, incluindo-se avaliações toxicológicas, de eficácia terapêutica com indicações precisas, com doses recomendadas, restrições de uso, efeitos colaterais e contra-indicações (Brasil, 1995d).

De posse desse documento oficial, qualquer empresa farmacêutica ou programa público poderia oficializar seus produtos isentando-os formalmente, desde que mantendo inalteradas todas as especificações expressas na monografia. Essa metodologia também é similar a que foi desenvolvida no processo alemão, pois naquele país publicaram-se mais de 400 monografias de fitoterápicos no período de 1978-1990 (Keller, 1992). Já no Brasil, esquema semelhante foi adotado nos anos 70 pela antiga Câmara Técnica de Medicamentos do Ministério da Saúde, que chegou à publicação de diversas monografias completas de vários medicamentos, como, por exemplo, a Resolução Normativa nº 7/1979 (Vigilância, 1980).

A Lei nº 6360/1976 cita que estão isentos de registro os produtos constantes das edições da Farmacopéia Brasileira e de outros códigos aceitos como equivalentes. Com a normatização da isenção, houve várias solicitações questionando quais seriam esses códigos equivalentes. Como resposta, o GEPFITO resgatou a antiga Portaria DNS nº 52 de 17.3.1943, em pleno vigor pela falta de atualização (Brasil, 1943a), e contatou a CPRFB - Comissão Permanente de Revisão da Farmacopéia Brasileira. O resultado levou à revisão dessa antiga Portaria e à publicação de norma atualizada, a Portaria SVS nº 116 de 22.11.1995 (Brasil, 1995c), listando-se novas farmacopéias consideradas de bom padrão (Farmacopéias Alemã, Americana e seu Formulário Nacional, Britânica, Européia, Nórdica e Japonesa) e que podem ser usadas como equivalentes à brasileira na falta de monografia nesta.

Por fim, deve-se citar ainda a publicação recente de outras propostas de norma de produtos isentos de registro. A Portaria nº 178 de 10.3.1998 (Brasil, 1998a) foi lançada como consulta pública revogando a Portaria nº 81/1996, mas com conteúdos bastante semelhantes. Definem-se os produtos que podem sofrer a isenção, destacando-se os *medicamentos cujas fórmulas integrais constem da Farmacopéia Brasileira em vigor*, o que demonstra satisfatoriamente que o conceito adequado de isenção *para produtos acabados e não para matérias-primas* está sendo consolidado. Outro ponto que diz respeito à necessidade da isenção ser formalmente peticionada para que ocorra a avaliação necessária, bem como a oportunidade de elaboração de sistema de cadastramento através de certificados. A Portaria nº 178/1998 reforça a existência de prazo de validade da concessão de isenção de registro e a necessidade de sua renovação periódica. Ainda faz parte dessa nova

proposta a proibição do emprego de termos subjetivos como natural e similares, o que já constava na anterior e é muito saudável. Estes preceitos foram mantidos na RDC ANVISA nº 23/1999 (Brasil, 1999c), atual norma em vigor para produtos isentos de registro.

A RDC nº 17/2000, no seu artigo 4º, ao revogar o inciso XIX do Anexo da Portaria nº 2, de 24 de janeiro de 1995, abre espaço para o reposicionamento destes produtos.

3.4. Outras normas relacionadas

a) As normas de estudos toxicológicos e de eficácia de produtos fitoterápicos

O primeiro período proposto pela Portaria 6/1995 ficou voltado à área toxicológica, o que demonstrou a necessidade de normatização de tais estudos. Com a participação da Academia Brasileira de Ciências, foi editada proposta de portaria contendo um roteiro técnico de elaboração de estudos toxicológicos pré-clínicos e clínicos, complementada por preceitos gerais para estudos de eficácia terapêutica, expressa na Portaria SVS nº 116 de 8.8.1996 (Brasil, 1996b).

Essa norma contém exigências adequadas às particularidades de produtos fitoterápicos, permitindo, por exemplo, a realização concomitante de estudos toxicológicos pré-clínicos e clínicos com a finalidade de ganho de tempo, baseando-se no fato de as espécies estudadas geralmente já serem comercializadas e empregadas pela população. Além disso, orienta sobre as metodologias a serem utilizadas e uniformiza a prestação de serviços nessa área. Como decorrência, estimula à implantação desses serviços num número maior de instituições, pois a relativa raridade de locais disponíveis para a realização dos estudos toxicológicos constitui-se de fato um dos gargalos que tem dificultado o atendimento à legislação. Vale dizer, no entanto, que como não havia demanda sistemática desse tipo de estudo, poucas instituições de ensino e pesquisa dispunham-se a montar a estrutura necessária aos mesmos. Havendo agora tal demanda e normas claras para a sua execução, esses serviços devem crescer progressivamente.

Esta consulta pública, porém, não foi reavaliada até o presente momento, o que faz com que ela possua caráter meramente orientativo, de valor legal discutível.

Paralelamente observa-se a preocupação de Programas Estaduais em reavaliar o emprego de plantas medicinais, face aos novos conhecimentos sobre seu potencial de risco a certas camadas da população (Rio de Janeiro, 2002).

b) Propostas para produtos destinados à infusão extemporânea (chás)

Um outro aspecto a ser citado refere-se à questão do tipo de registro e o correspondente local permitido à comercialização de preparados destinados à obtenção de extratos extemporâneos (chás) (Marques, 1997). Há uma forte

interface entre o uso terapêutico e o alimentício de plantas, o que possibilitaria dois registros e locais de comércio distintos. As Portarias DINAL nº 19 e 32/1986 anteriormente citadas, ao tentarem normatizar essa questão para plantas destinadas à infusão, acabaram confundindo o setor, colocando apenas a indicação de propriedades terapêuticas como ponto delimitador. Isso acabou deslocando ao registro e comércio como alimento de grande parte dos fitoterápicos, em função das facilidades e rapidez no processo de registro e no maior número de pontos de vendas.

Em função disso, propôs-se a revogação dessas duas Portarias e sua substituição por outra que ampliasse os conceitos delimitadores da interface discutida e regularizasse o registro de plantas usadas como chás. Esse trabalho resultou nas Portarias SVS nº 550 de 31.10.1997, posteriormente substituída pela de nº 519 de 29.6.1998 (Brasil, 1997; 1998b).

Em síntese, permitem o registro para preparações extemporâneas como chás de vegetais que não apresentem toxicidade nas doses usuais àquelas usadas em preparação alimentícia, não apresentem uso característico como medicinal independente da sua apresentação como alimento (finalidade farmacoterapêutica). E visando facilitar o expediente desse tipo de registro, a comissão de especialistas que elaborou tais portarias incluiu ainda uma *lista positiva*, isto é, uma lista de espécies para as quais já se admite a aplicação *a priori* dos requisitos citados acima e que podem ser objeto de solicitação de registro imediata, como por exemplo: capim-limão, camomila, melissa, hortelãs, anis, funcho e outras relacionadas a frutos ou partes de frutos. A princípio, as plantas carqueja e boldo-do-chile não foram incluídas, mas na versão final constaram da lista positiva da Portaria 519/1998. Essa inclusão, particularmente do boldo chileno é polêmica, pois se sabe amplamente dos seus possíveis efeitos tóxicos pela presença do ascaridol na sua fração essencial, que pode levar a agravos à saúde dos usuários, tais como irritação renal, sendo contra-indicado durante a gravidez (Newall et al., 1996).

A par desses critérios, a questão da qualidade da matéria-prima pode ser avaliada diferentemente do que para medicamentos, especialmente quanto à flexibilidade dos teores de constituintes ativos. Esse tipo de procedimento é adotado, por exemplo, na Argentina (Bandoni, 1988).

Recentemente, têm surgido problemas nessa área, em decorrência da publicação, pela ANVISA, da Resolução nº 23 de 15.3.2000 (Brasil, 2000e). Essa norma dispõe sobre procedimentos de isenção de registro de alimentos; no seu anexo I, listam-se diversas categorias dispensadas da obrigatoriedade de registro, dela constando a classe "chás". Sem realizar o vínculo necessário com a Portaria nº 519 de 1998, a qual define quais são as espécies vegetais aceitas como chás, a Resolução 23/2000 tem servido como brecha para isenção e comercialização de diversos produtos contendo múltiplas plantas medicinais, vendidos em farmácias e ofertados com folhetos ricos em indicações

terapêuticas. O esclarecimento desse aspecto faz-se necessário junto às equipes de fiscalização sanitária, para que todo o trabalho de normatização sobre fitoterápicos não seja prejudicado por essa nova confusão técnica e legal.

c) A Portaria SVS nº 741/1998

Apesar das inúmeras discussões e tentativas de normatização dos fitoterápicos e classes afins, editou-se a Portaria SVS nº 741/1998 (Brasil, 1998d), que permite o registro de determinados alimentos apenas com protocolos, sem a necessidade de um padrão de identidade e de qualidade específico, por serem considerados como “naturais”; essa norma incluiu extratos vegetais e plantas medicinais, alguns inclusive sob formas farmacêuticas, mas foi editada com prazo de apenas 30 dias. Os motivos dessa publicação estão relacionados à falta de clareza de como se empregar adequadamente os instrumentos legais disponíveis, suficientes para registrar qualquer produto “natural”, esperando-se que a Portaria nº 741 tenha vida curta e venha a ser revogada em breve.

Enquanto tal não acontece, seu prazo de vigência vem sendo prorrogado seguidamente, havendo constantes exclusões de vários produtos listados (Tondo, 1999; Tondo e Petrovick, 1999 e 2000).

d) Restrição de comercialização

A modificação da postura do Sistema Nacional de Vigilância Sanitária com relação ao registro de medicamentos fitoterápicos pode ser exemplificada com a classificação de medicamentos fitoterápicos como medicamentos de venda sob prescrição médica, isto é, com tarja vermelha, como no caso da cava-cava (Brasil, 2002a) e da erva-de-são-joão (Brasil, 2002b), ocasionada pelos novos conhecimentos sobre reações adversas de produtos derivados destas plantas medicinais.

e) Genéricos

A introdução no País dos medicamentos genéricos, em 1999 (BRASIL, 1999c; 2001b; 2002c), excluiu a possibilidade de produção de medicamentos fitoterápicos nesta classe. A dificuldade da comprovação da bioequivalência foi o fator determinante para esta decisão, em face, especialmente, da amplitude da dose terapêutica e das questões analíticas. Nota-se, no entanto, uma preocupação, em nível mundial, através do aprimoramento das técnicas de produção, de inovação tecnológica e das metodologias dos ensaios clínicos (Hässel e Spiess, 1999).

4. PERSPECTIVAS DE EFETIVIDADE DE NORMATIZAÇÃO PARA A ÁREA

Com o conjunto de normas recém editadas, espera-se que venham melhorar a segurança, eficácia e qualidade dos fitoterápicos brasileiros, protegendo a saúde dos pacientes e usuários desses produtos e inclusive contribu-

indo à consolidação dessa importante corrente terapêutica. Complementarmente, esse processo pode também estimular a pequena empresa nacional de medicamentos, levando-a à pesquisa, única forma possível de desenvolvimento tecnológico e obtenção de produtos seguros, eficazes e irrefutáveis, condições que esperamos verificar em todos os fitoterápicos nos próximos anos. A discussão em torno dos nutracêuticos ou alimentos dotados de indicações terapêuticas poderá obrigar a alterações na legislação vigente. Convém salientar também que a harmonização das normas de registro e comercialização de medicamentos fitoterápicos no âmbito do Mercosul ainda não foi iniciada.

Apesar do conjunto de normas ter sido intensamente debatido e modificado seguidamente, como forma de adequação à realidade brasileira, mesmo assim parece não espelhar totalmente o segmento fitoterápico nacional. É o que se pode concluir a partir do processo de mobilização desencadeado pela Associação Brasileira da Indústria Fitoterápica, expresso num projeto de lei apresentado ao Congresso Nacional (ABIFITO, 2002). Esse projeto cria a categoria de "produtos de origem natural para a saúde", numa conjunção de características definidas nas normas de fitoterápico tradicional com conceitos de alimentos funcionais, isto é, com propriedades auxiliares na redução de riscos de doenças, mas não indicações terapêuticas. Representa, na prática, a retomada do processo de discussão da legislação desde o início, isto é, se o fitoterápico tem perfil medicamentoso ou alimentício. A única vantagem dessa proposta é estar no âmbito do Poder Legislativo, esperando que venha a estimular uma lei sobre o tema, resolvendo de vez esse histórico de modificações de normas menores, sem uma efetiva definição sobre as regras desse mercado. Adiciona-se a isto a edição de nova consulta pública, pela ANVISA, alterando os critérios de registro e ampliando a lista de produtos de plantas medicinais com registro facilitado (Brasil, 2002d).

O cenário dos medicamentos fitoterápicos que envolve questões relativas à biodiversidade, propriedade intelectual, conhecimento tradicional, desenvolvimento social, conduziu à discussão para a necessidade de implementação de uma política nacional que dê suporte ao desenvolvimento do setor e da nação (Brasil, 2001b).

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABIFITO – Associação Brasileira da Indústria Fitoterápica. Proposta de projeto de lei para produtos de origem natural para a saúde. Disponível em <www.abifito.com.br>. Acesso em 09 jul. 2002.
- ABREU, E.A.P. de A Physicatura Mor e o Cirurgião Mor dos Exércitos no Reino de Portugal – 1886. *Revista do Instituto Histórico e Geográfico do Brasil*, 1901.
- AL-YAAHYA, M.A.; RAFATULLAH, S.; AGEEL, A.M.; PARMAR, N.S.; TARIQ, M. Gastroprotective activity of ginger *Zingiber officinale* Rosc., in albino rats. *American Journal of Chinese Medicine*, v. 17, n. 1-2, p. 51-56, 1989.

- ARGENTINA, Ministerio de la Salud y Acción Social, Secretaria de Política y Regulación de Salud, Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica. Disposición ANMAT N° 2673/99 de 26.5.1999. Aproba Normas para la implementación del Registro de Medicamentos Fitoterápicos. *Boletín Oficial* (República Argentina), 7.6.1999.
- ARTIGES, A. What are the Legal Requirements for the Use of Phytopharmaceutical Drugs in France? *Journal of Ethnopharmacology*, v. 32, p. 231-234, 1991.
- ASSOCIATION Européenne des Spécialités Pharmaceutiques Grand Public (AESGP). *Herbal Medicinal Products in the European Union*. Brussels: AESGP, 2000. Disponível em <www.aesgp.be>. Capturado como Herbal Medecines EN.pdf em 25 jul. 2000.
- BANDONI, A.L. Use of medicinal plants in Argentina and its legislation. *Herba Hungarica*, v. 27, Suppl., p. 41-43, 1988.
- BIJOS, G.M.; PILLAR, O. *Legislação farmacêutica (de 1931 a 1964)*. Rio de Janeiro: São José, 1964.
- BLUMENTHAL, M.; GRÜNWALD, J.; HALL, T.; RIGGINS, C.W.; RISTER, R.S. (ed.). *German Commission E Monographs: Therapeutic Monographs on Medicinal Plants for Human Use*. Austin: American Botanical Council, 1997.
- BRASIL. Departamento Nacional de Saúde. Portaria n° 52 de 17.3.1943. Determina que os produtos oficiais que não constarem do Código Farmacêutico Brasileiro possam ser fabricados de acordo com os dispositivos das farmacopéias estrangeiras e dos formulários, aceitos pela Comissão de Revisão da Farmacopéia. *Diário Oficial da União*, 20.3.1943a.
- BRASIL. Departamento Nacional de Saúde. Portaria n° 47 de 6.3.1943. Resolve codificar, dirimindo dúvidas existentes, os dispositivos referentes a produtos oficiais e especialidades farmacêuticas e revogar disposições relativas ao assunto constantes de Portarias anteriores. 1943b. In: BIJOS, G.M. e PILLAR, O. *Legislação farmacêutica (de 1931 a 1964)*. Rio de Janeiro: São José, 1964.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Serviço Nacional de Fiscalização da Medicina e da Farmácia. Portaria n° 14 de 2.10.1963. Considerando as frequentes consultas sobre a correta definição de droga, produto químico, produto oficial e de especialidade farmacêutica, resolve esclarecer tais dúvidas. In: BIJOS, G.M. e PILLAR, O. *Legislação farmacêutica (de 1931 a 1964)*. Rio de Janeiro: São José, 1964.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Serviço Nacional de Fiscalização da Medicina e da Farmácia. Portaria n° 22 de 30.10.1967. Estabelece normas para o emprego de preparações fitoterápicas. *Diário Oficial da União*, 16.11.1967, p. 11571-11572, 1967.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Serviço Nacional de Fiscalização da Medicina e da Farmácia. Portaria n° 35 de 27.6.1972. *Diário Oficial da União*, 6.7.1972.
- BRASIL. Lei n° 6360 de 23.9.1976. Dispõe sobre a vigilância a que ficam sujeitos medicamentos, drogas, insumos, correlatos, cosméticos, saneantes e outros. *Diário Oficial da União*, 24.9.1976. Disponível em <www.brasil.gov.br>. Acesso em 14 nov. 2000.
- BRASIL. Ministério do Trabalho. Conselho Federal de Farmácia. *A organização jurídica da profissão farmacêutica*. São Paulo: CFF, 1979.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária. Divisão de Medicamentos. Portaria n° 12 de 17.7.1980. Proíbe a fabricação e venda de produtos que contenham em sua fórmula, isolada ou associada, a substância estricnina e seus compostos. *Diário Oficial da União*, 24.7.1980.

- BRASIL. Ministério da Agricultura. Portaria IBDF nº 174-P de 11.3.1981. Estabelece competência ao Departamento de Parques Nacionais e Reservas Equivalentes conceder autorização especial para realização de pesquisa destinada a fins exclusivamente científicos. *Lex: coletânea de legislação e jurisprudência*, v. 45, p. 377-379, 1981a.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria DIMED nº 19 de 27.11.1981. Determina a apresentação de documentos para obtenção da Aprovação Preliminar de Produto Natural (APPN). *Diário Oficial da União*, 14.12.1981b.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Nacional Vigilância Sanitária. Portaria nº 5 de 8.1.1982. Institui o certificado de isenção de registro de produto. *Diário Oficial da União*, 12.1.1982.
- BRASIL. Ministério da Agricultura. Portaria IBDF nº 122-P de 19.3.1985. Estabelece normas ao registro de pessoas físicas ou jurídicas que consumam, explorem ou comercializem matéria-prima florestal. *Lex: coletânea de legislação e jurisprudência*, v. 49, p. 597-609, 1985.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria nº 19 de 7.4.1986. Torna obrigatório o registro na DINAL das especiarias e ervas destinadas a infusões ou chás que não contenham indicações no rótulo. *Diário Oficial da União*, 9.4.1986a.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Nacional Vigilância Sanitária. Portaria nº 32 de 5.6.1986. Adota a definição, designação e características para distinguir as especiarias e ervas destinadas a infusões ou chás que não contenham indicações terapêuticas no rótulo. *Diário Oficial da União*, 10.6.1986b.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução CIPLAN nº 4 de 8.3.1988. Fixa diretrizes sobre o atendimento médico homeopático nos serviços de saúde. *Diário Oficial da União*, 11.3.1988a.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução CIPLAN nº 8 de 8.3.1988. Implanta a prática da fitoterapia nos serviços de saúde. *Diário Oficial da União*, 11.3.1988b.
- BRASIL. Estado do Paraná. Secretaria Estadual de Saúde. *Relatório final da Reunião sobre legislação de fitoterápicos*. Curitiba, 1989. mimeo., 10 p.
- BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Decreto nº 98830 de 15.1.1990. Dispõe sobre a coleta, por estrangeiros, de dados e materiais científicos no Brasil. *Lex: coletânea de legislação e jurisprudência*, v. 54, p. 82-85, 1990a.
- BRASIL. Ministério da Agricultura. Portaria IBDF nº 55 de 14.3.1990. Aprova o regulamento sobre coleta, por estrangeiros, de dados e materiais científicos no Brasil. *Lex: coletânea de legislação e jurisprudência*, v. 54, p. 520-528, 1990b.
- BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Portaria IBAMA nº 6-N de 15.1.1992. Apresenta a lista oficial de espécies da flora brasileira ameaçadas de extinção. *Diário Oficial da União*, 23.1.1992a.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria SNVS nº 19 de 30.1.1992. Proíbe o uso de confrei (*Symphytum officinale* L.) em preparações para uso interno. In: *Boletim da Sobravime*, v. 5, p. 2, nov./dez. 1991 e jan. 1992b.
- BRASIL. Estado do Paraná. Secretaria Estadual de Saúde. Resolução nº 19 de 10.3.1992. Resolve suspender, por tempo indeterminado, a comercialização da planta medicinal cambará (*Lantana* sp), tanto *in natura* como sob todas as formas farmacêuticas. *Diário Oficial do Estado do Paraná*, 1992c.

- BRASIL, Lei nº 8617 de 4.1.1993. Dispõe sobre o mar territorial, a zona contígua, a zona econômica exclusiva e a plataforma continental brasileiros. *Diário Oficial da União*, 4.1.1993a. Disponível em <www.brasil.gov.br>. Acesso em 14 nov. 2000.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 546 de 21.5.1993. Institui o Grupo Consultor Técnico-científico incumbido de estabelecer a normatização e o controle dos serviços, da produção, da armazenagem e da utilização de substâncias e produtos naturais. *Diário Oficial da União*, 24.5.1993b.
- BRASIL. Estado do Paraná. Secretaria Estadual de Saúde. Centro de Saneamento e Vigilância Sanitária. *Norma técnica especial referente ao sistema de registro de medicamentos no Estado do Paraná (minuta)*. Curitiba, 1993c. mimeo.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 40 de 10.1.1994. Institui a subcomissão da Comissão Permanente da Farmacopéia Brasileira para elaborar monografias de plantas medicinais. *Diário Oficial da União*, 12.1.1994a.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 42 de 10.1.1994. Institui a subcomissão da Comissão Permanente da Farmacopéia Brasileira para elaborar normas sobre fitoterápicos. *Diário Oficial da União*, 12.1.1994b.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 43 de 10.1.1994. Institui a Comissão Técnica de Integração Terapêutica. *Diário Oficial da União*, 12.1.1994c.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria nº 31 de 6.4.1994. Cria o Grupo de Estudos de Produtos Fitoterápicos. *Diário Oficial da União*, 8.4.1994d.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Nacional Vigilância Sanitária. Portaria SVS nº 123 de 19.10.1994. Estabelece as normas para o registro de produtos fitoterápicos, determinando 30 dias para questionamentos fundamentados visando o seu aperfeiçoamento. *Diário Oficial da União*, 20.10.1994e.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria nº 90 de 25.8.1994. Apresenta definições para a classificação de medicamentos hepatoprotetores. *Diário Oficial da União*, 26.8.1994f.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria nº 91 de 25.8.1994. Apresenta as diretrizes para registro de medicamentos hepatoprotetores. *Diário Oficial da União*, 26.8.1994g.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Portaria SVS nº 6 de 31.1.1995. Institui e normatiza o registro de produtos fitoterápicos junto ao Sistema de Vigilância Sanitária. *Diário Oficial da União*, 6.2.1995a.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Portaria nº 81 de 13.9.1995. Aprova a regulamentação para isentos de registro. *Diário Oficial da União*, 14.9.1995b.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Portaria nº 116 de 22.11.1995. Trata da admissibilidade de códigos farmacêuticos estrangeiros como referência no preparo de produtos oficiais. *Diário Oficial da União*, 23.11.1995c.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Portaria nº 125 de 1.12.1995. Altera a composição do Grupo de Estudos de Produtos Fitoterápicos. *Diário Oficial da União*, 5.12.95, 1995d.
- BRASIL. Lei nº 9270 de 14.5.1996. Regula direitos e obrigações relativos à propriedade industrial – Lei das Patentes. *Diário Oficial da União*, 15.5.1996a. Disponível em <www.brasil.gov.br>. Acesso em 14 nov. 2000.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Portaria nº 116 de

- 8.8.1996. Publica proposta de norma para estudo da toxicidade e da eficácia de produtos fitoterápicos. *Diário Oficial da União*, 12.8.1996b.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Portaria nº 550 de 31.10.1997. Proposta de regulamento técnico referente a plantas destinadas à preparação de infusões ou decoções (chás). *Diário Oficial da União*, 10.11.1997.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Portaria nº 178 de 10.3.1998. Submete à consulta pública o regulamento técnico sanitário visando disciplinar o procedimento de isenção de registro de produtos. *Diário Oficial da União*, 11.3.1998a.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Portaria nº 519 de 26.6.1998. Regulamento técnico para fixação de identidade de "chás" - Plantas destinadas à preparação de infusões ou decoctos. *Diário Oficial da União*, 29.6.1998b.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Portaria nº 665 de 25.8.1998. Institui a Subcomissão Nacional de Assessoramento em Fitoterapia (CONAFIT) da CONATEM, vinculada à SVS. *Diário Oficial da União*, 26.8.1998c.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Portaria nº 741 de 16.9.1999. Apresenta listagem de alimentos "naturais" que não necessitam de padrão de qualidade e identidade. *Diário Oficial da União*, 17.9.1998d.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Portaria nº 1029 de 21.12.1998. Submete à consulta pública proposta de regulamento técnico sanitário visando disciplinar o procedimento de registro de produto fitoterápico. *Diário Oficial da União*, 23.12.1998e.
- BRASIL. Lei 9782 de 26.1.1999. Define o Sistema Nacional de Vigilância Sanitária e cria a Agência Nacional de Vigilância Sanitária. *Diário Oficial da União*, 27.1.1999a. Disponível em <www.anvisa.gov.br>. Acesso em 28 jan. 1999.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 210 de 15.3.1999. Altera os membros da Subcomissão de Assessoramento em Fitoterápicos. *Diário Oficial da União*, 17.3.1999b. Disponível na Internet na página <http://www.in.gov.br>, capturado em 18 mar. 1999.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 391 de 9.8.1999. Aprova o Regulamento Técnico para medicamentos genéricos. *Diário Oficial da União*, 10.8.1999c. Disponível em <www.in.gov.br>. Acesso em 15 ago. 1999.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) nº 23 de 6.12.1999. Dispõe sobre a isenção de registro de produtos. *Diário Oficial da União*, 8.12.1999d. Disponível em <www.anvisa.gov.br>. Acesso em 09 dez. 1999.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria ANVS nº 12 de 12.1.2000. Determina atribuições da Comissão Permanente de Revisão da Farmacopéia Brasileira. *Diário Oficial da União*, 21.1.2000a. Disponível em <www.in.gov.br>. Acesso em 21 jan. 2000.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) nº 17 de 24.2.2000. Aprova regulamento técnico, normatizando o registro de medicamentos fitoterápicos junto ao Sistema de Vigilância Sanitária. *Diário Oficial da União*, 24.4.2000b. Disponível em <www.in.gov.br>. Acesso em 28 fev. 2000.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução

- de Diretoria Colegiada (RDC) nº 92 de 23.10.2000. Dispõe sobre embalagens, rótulos, bulas, textos e quaisquer materiais de divulgação e informação médica referente a medicamentos. *Diário Oficial da União*, 26.10.2000c. Disponível em <www.in.gov.br>. Acesso em 26 out. 2000.
- BRASIL. Medida Provisória 2052-4 de 26.10.2000. Regulamenta a Constituição e a Convenção sobre Diversidade Biológica, dispondo sobre o acesso e a proteção ao patrimônio genético e ao conhecimento tradicional associado. *Diário Oficial da União*, 27.10.2000d. Disponível em <www.in.gov.br>. Acesso em 27 out. 2000.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) nº 23 de 15.3.2000. Dispõe sobre o manual de procedimentos básicos para registro e dispensa da obrigatoriedade de registro de produtos pertinentes à área de alimentos. *Diário Oficial da União*, 16.3.2000e. Disponível em <www.in.gov.br>. Acesso em 7 dez. 2000.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) nº 10 de 2.1.2001. Aprova o Regulamento Técnico para Medicamentos Genéricos. *Diário Oficial da União*, 15.1.2001a. Disponível em <www.in.gov.br>. Acesso em 17 jan. 2001.
- BRASIL. Ministério da Saúde, Secretaria de Políticas da Saúde. *Proposta de Política Nacional de Plantas Medicinais e Medicamentos Fitoterápicos*. Brasília: Ministério da Saúde, 2001b.
- BRASIL. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) nº 102 de 30.11.2000. Aprova o Regulamento sobre propagandas, mensagens publicitárias e promocionais e outras práticas cujo objeto seja a divulgação, promoção ou comercialização de medicamentos de produção nacional ou importados, quaisquer que sejam as formas e meios de sua veiculação, incluindo as transmitidas no decorrer da programação normal das emissoras de rádio e televisão. *Diário Oficial da União*, 1.6.2001c. Disponível em <www.in.gov.br>. Acesso em 07 jun. 2001.
- BRASIL. Presidência da República. Medida Provisória nº 2186-16 de 23.8.2001. Regulamenta o inciso II do § 1º e o § 4º do art. 225 da Constituição, os art. 1º, 8º, alínea "j", 10, alínea "c", 15 e 16, alíneas 3 e 4 da Convenção sobre Diversidade Biológica, dispõe sobre o acesso ao patrimônio genético, à proteção e o acesso ao conhecimento tradicional associado, à repartição de benefícios e o acesso à tecnologia e à transferência de tecnologia para sua conservação e utilização. Originária: MP 2052 de 29.6.2000 (DOU 30.6.2000). *Diário Oficial da União*, 24.8.2001d. Disponível em <www.in.gov.br>. Acesso em 27 ago. 2001.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução Específica (RE) nº 356 de 28.2.2002. Determina como medida de interesse sanitário, a apreensão, em todo território nacional, de qualquer produto farmacêutico a base de kava-kava (*Piper methysticum* L.) que não possuam tarja vermelha contendo os dizeres "Venda sob prescrição médica". *Diário Oficial da União*, 4.3.2002a. Disponível em <www.in.gov.br>. Acesso em 10 mar. 2002.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução Específica (RE) nº 357 de 28.2.2002. Determina como medida de interesse sanitário, a apreensão, em todo território nacional, de qualquer produto farmacêutico a base de erva-de-são-joão (*Hypericum perforatum*) que não possuam tarja

- vermelha contendo os dizeres "Venda sob prescrição médica". *Diário Oficial da União*. 4.3.2002b. Disponível em <www.in.gov.br>. Acesso em 10 mar. 2002.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) nº 84 de 19.3.2002. Aprova o Regulamento Técnico para medicamentos genéricos. *Diário Oficial da União*. 20.3.2002c. Disponível em <www.in.gov.br>. Acesso em 22 mar. 2002.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Consulta Pública nº 61 de 12.8.2002. Proposta de Regulamento Técnico sobre o registro de medicamentos fitoterápicos. *Diário Oficial da União*. 14.8.2002d. Disponível em <www.in.gov.br>. Acesso em 20 set. 2002
- BUARQUE DE HOLLANDA, S. *História geral da civilização brasileira – O Brasil monárquico*. São Paulo: Difel, 1985.
- BUNDESFACHVERBAND der Arzneimittel-Hersteller e.V. *Phytopharmaka in der EU*. 2. Aufl., Bonn: BAH, 2000.
- CALIXTO, J.B. Efficacy, Safety, Quality Control, Marketing and Regulatory Guidelines for Herbal Medicines (Phytotherapeutic Agents). *Brazilian Journal of Medicine and Biological Research*, v.33, n.2, p.179-189, 2000.
- CARRARA JR., E. e MEIRELLES, H. *A indústria química e o desenvolvimento do Brasil*. São Paulo: Metalivro, 1996. 2 v.
- COLOMBIA. Ministerio de la Salud. *Ley nº 86 de 3.6.93*. Por la cual se reglamenta el uso e industrialización de la flora medicinal. 1993.
- DIAS, H.P. *Vigilância sanitária de medicamentos e drogas*. Brasília: Ministério da Saúde, 1980.
- DIDING, N.A.; REDMALM, G.; SAMUELOSN, G.; FRIGEN, L.; YANAB, B.M. & VAN KATJWIK, I. Effect of irradiation of crude drugs. *Svensk Farmaceutisk Tidskrift*, v.77, n. 13, p. 622-630, 1973.
- ERNST, E. e PITTLER, M.H. Efficacy of ginger for nausea and vomiting: a systematic review of randomized clinical trials. *British Journal of Anaesthesia*, v. 84, n. 3, p. 367-371, 2000.
- EUROPEAN Agency for the Evaluation of Medicinal Products (EMA). *Draft Points to Consider on the Evidence of Safety and Efficacy Required for Well-established Herbal Medicinal Products in Bibliographic Applications*. London: EMA, 1999a. EMA/HMPWG/32/99 draft. Disponível nem <www.eudra.org>. Capturado como 002399en.pdf em 16 nov. 2000.
- EUROPEAN Agency for the Evaluation of Medicinal Products (EMA). *Draft Comments on the Document Good Agricultural Practice from the European Herbs Growers and Producers Association (Europam) of 5 August 1998*. London: EMA, 1999b. EMA/HMPWG/18/99 draft. Disponível em <www.eudra.org>. Capturado como 001899en.pdf em 16 nov. 2000.
- EUROPEAN Agency for the Evaluation of Medicinal Products (EMA). *Position Paper on the Risks Associated to the Use of Herbal Products Containing Aristolochia Species*. London: EMA, 2000. EMA/HMPWG/23/00. Disponível em <www.eudra.org>. Capturado como 0002300en.pdf em 5 jun. 2002.
- FARIAS, M.R.; SCHENKEL, E.P.; BERGOLD, A.M.; PETROVICK, P.R. O problema da qualidade dos fitoterápicos. *Caderno de Farmácia*, Porto Alegre, v. 1, n. 2, p. 73-82, 1985.
- FARMACOPÉIA Brasileira. 3. ed. São Paulo: Andrei, 1977.
- FARMACOPÉIA dos Estados Unidos do Brasil. 2. ed. São Paulo: Siqueira, 1959.

- FRENKEL, J.; REIS, J.A.; ARAÚJO JUNIOR, J.T.; NAIDIN, L.C.; LOBO, R.S.; FONSECA, M.S. *Tecnologia e competição na indústria farmacêutica brasileira*. Rio de Janeiro: Finep, 1978.
- FUNDAÇÃO Oswaldo Cruz. *Seminário para legislação de plantas medicinais e medicamentos fitoterápicos: relatório final*. Rio de Janeiro: Fiocruz, 1994.
- GARRET, B.J.; CHEEKE, P.R.; MIRANDA, C.L.; GOEGER, D.E.; BUHLER, D.R. Consumption of Poisonous Plants (*Senecio jacobea*, *Symphytum officinale*, *Pteridium aquilinum*, *Hypericum perforatum*) by Rats: Chronic Toxicity, Mineral Metabolism and Hepatic Drug-metabolizing Enzymes. *Toxicology Letters*, v. 10, p. 183-188, 1982.
- GERMONSÉN-ROBINEAU, L. (ed.) *Hacia una farmacopea caribenã (TRAMIL 7)*. Santo Domingo: Enda-Caribe, 1995.
- GUPTA, M.P. (ed.) *270 plantas medicinales iberoamericanas*. CYTED-SECAB: Santafé de Bogotá, Colombia, 1995.
- HÄNSEL, R.; SPIESS, E. Allgemeines über pflanzliche Arzneimittel. In: HÄNSEL, R.; STICHER, O.; STEINEGGER, E. (Hrsgb.) *Pharmakognosie – Phytopharmazie*. 6. Aufl., Berlin; Heidelberg; New York; Barcelona; Hongkong; London: Mailand; Singapur; Tokio: Springer, 1999. Kap. 2, p.119-207.
- HÄNSEL, R.; STICHER, O.; STEINEGGER, E. *Pharmakognosie – Phytopharmazie*. 6. Aufl., Berlin; Heidelberg; New York; Barcelona; Hongkong; London: Mailand; Singapur; Tokio: Springer, 1999.
- KELLER, K. Legal requirements for the use of phytopharmaceutical drugs in the Federal Republic of Germany. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 32, p. 225-229, 1991.
- KELLER, K. Results of the revision of herbal drugs in the Federal Republic of Germany with a special focus on risk aspects. *Zeitung für Phytotherapie*, v. 13, p. 116-120, 1992.
- LIBERALI, C.H. Atitudes e rumos da indústria farmacêutica. *Revista Brasileira de Farmácia*, v. 25, n. 3, p. 122-133, 1944.
- MANCINI, B. Plantas medicinais: a realidade. *Revista Racine*, v. 27, n. 5, p. 6-7, 1995.
- MARQUES, L.C. *Produção e comercialização de fitoterápicos no Paraná: uma abordagem de vigilância sanitária*. Dissertação (Mestrado em Botânica) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1992.
- _____. Avaliação do mercado de fitoterápicos em relação às exigências em vigor da Portaria SVS nº 06/95. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 14, *Anais*. Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina, 1996.
- _____. Proposta de normatização do comércio ambulante de drogas vegetais. *Revista Racine*, v. 7, n. 43, p. 70-71, 1997.
- MARQUES, L.C.; BÓRIO, E.B.L. Levantamento das condições de produção fitoterápica em Curitiba. *Tribuna Farmacêutica*, v. 57/59, n. 1-2-3, p. 87-94, 1991.
- MARQUES, L.C.; MEYER, A.L.; MELLO, J.C.P.; CARDOSO, M.L.C. Avaliação da qualidade das drogas vegetais no Paraná. *Tribuna Farmacêutica*, v. 57/59, n. 1-2-3, p. 72-78, 1991.
- MASCOLO, N.; JAIN, R.; JAIN, S.C.; CAPASSO, F. Ethnopharmacological investigation of ginger (*Zingiber officinale*). *Journal of Ethnopharmacology*, v. 27, n. 1-2, p. 129-140, 1989.
- MATOS, F.J.A. *Farmácias vivas*. Fortaleza: UFCE, 1999.

- NEWALL, C.; ANDERSON, L.; PHILLIPSON, J. *Herbal Medicines*. London: Pharmaceutical, 1996.
- NÓBREGA, P. Controle de produtos fitoterápicos no Brasil. *Arquivos do Instituto Biológico*, v. 37, supl. I, p. 87-89, 1970.
- ORGANIZACION Mundial de la Salud. Programa de Medicina Tradicional. *Pautas para la evaluación de medicamentos herbarios*. Ginebra: OMS, 1991.
- PDR - Physician Desk Reference for Herbal Medicines. 1^a. ed. Montvale, New Jersey: Medical Economics, 1998.
- PEREIRA, M.A.C. *O perfil da indústria farmacêutica no Estado do Rio Grande do Sul*. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2002.
- PEREIRA, N.A.; SIQUEIRA-JACCOUD, R.J.; RUPPEL, B.M.; MATTOS, S.M.P. As plantas medicinais estudadas por Rodolfo Albino Dias da Silva. *Revista Brasileira de Farmácia*, v. 70, n. 2, p. 29-33, 1989.
- PETROVICK, P.R.; MARQUES, L.C.; DE PAULA, I.C. New Rules for Phytopharmaceutical Drug Registration in Brazil. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 66, p. 51-55, 1999.
- PIRAGIBE, A. *Notícia histórica da legislação sanitária no Império do Brasil desde 1822 até 1878*. Rio de Janeiro: E. & H. Laemmert, 1880.
- RAPPEL, E. Qualidade industrial no Brasil: um controle ainda descontrolado, *Revista Brasileira de Tecnologia*, Brasília, v. 12, n. 3, p. 18-24, 1981.
- REESTRUTURAÇÃO da legislação e dos serviços sanitários federais. *Tribuna Farmacêutica*, v. 15, n. 7, p. 12-14, 1947.
- RIO DE JANEIRO, Secretaria de Estado da Saúde. Resolução SES/RJ nº 1757 de 18.2.2002. Contra-indica o uso de plantas medicinais no âmbito do Estado do Rio de Janeiro. *Diário Oficial do Estado do Rio de Janeiro*, 20.2.2002.
- ROQUE, O.R.; CUNHA, A.P. A legislação européia e as recomendações propostas pela OMS e UEE em relação aos medicamentos à base de plantas. In: JORNADA PAULISTA DE PLANTAS MEDICINAIS, 3. *Resumos*. Campinas: Unicamp, 1997.
- SAITO, H. Regulation of Herbal Medicines in Japan. *Pharmacology Review*, v. 41, n. 5, p. 515-519, 2000.
- SCHILCHER, H. Bedeutung von Arzneipflanzen und Phytopharmaka in der Bundesrepublik Deutschland. *Pharmazeutische Zeitung*, v. 127, n. 41, p. 2174- 2180, 1982.
- SILVA, R.A.D. *Pharmacopéia dos Estados Unidos do Brasil*. São Paulo: Nacional, 1929.
- STEINHOFF, B. Regulatorische Anforderungen an die pharmazeutischen Qualität. In: GAEDKE, F.; STEINHOFF, B.; BLASIUS, H. (Hrsgb.) *Phytopharmaka*. Stuttgart: Wissenschaftliche, 2000. Kap. 5, p.83-109.
- SRIVASTAVA, K.C.; MUSTAFA, T. Ginger (*Zingiber officinale*) in rheumatism and musculoskeletal disorders. *Medical Hypotheses*, v. 39, n. 4, p. 342-348, 1992.
- TEIXEIRA, F.E. Natureza, um modismo na cultura alternativa. *Pau Brasil*, São Paulo, v. 7, p. 77-79, 1985.
- TONDO, T.L. Legislação sanitária. *Caderno de Farmácia*, Porto Alegre, v. 15, n. 1, p. 31-39, 1999.
- TONDO, T.L.; PETROVICK, P.R. Legislação sanitária. *Caderno de Farmácia*, Porto Alegre, v.15, n.2, p. 95-103, 1999.

- _____. Legislação sanitária. *Caderno de Farmácia*, Porto Alegre, v.16, n.1, p. 37-42, 2000.
- TYLER, V.E. *The new honest herbal: a sensible guide to the use of herbs and related remedies*. Philadelphia: George F. Stickley, 1987.
- _____. What pharmacists should know about herbal remedies. *Journal of the American Pharmaceutical Association*, v. NS36, n. 1, p. 29-37, 1996.
- TYLER, V.E.; BRADY, L.R.; ROBBERS, J.E. *Pharmacognosy*. 9. ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1988.
- VIGO, C.L.S.; OLIVEIRA, K.P.; REIS, S.; NARITA, E.; MONTEIRO, L.P.B.; MARQUES, L.C. Avaliação da utilização atual da planta confrei (*Symphytum officinale* L.) como medicamento. *Revista Racine*, v. 12, n. 68, p. 48-54, 2002.
- VIGILÂNCIA Sanitária. São Paulo: Andrei, 1980. v. 3.
- WORLD Health Organization *Regulatory Situation of Herbal Medicines. A Worldwide Review*. 1998.[WHO/TRM/98.1]
- WORLD Health Organization. *WHO Monographs on Selected Medicinal Plants*. Geneva: WHO, 1999a. v.1.
- WORLD Health Organization. *Quality Assurance of Pharmaceuticals*. Geneva: WHO, 1999b. v. 2.
- WORLD Health Organization. *General Guidelines for Methodologies on Research and Evaluation of Traditional Medicine*. Geneva: WHO, 2000a. [WHO/EDM/TRM/2000.1]
- WORLD Health Organization. Herbal Medicines. *WHO Drug Information*, v. 14, n. 4, p. 237-243, 2000b.
- WORLD Health Organization. *Report of the Inter-Regional Workshop on Intellectual Properties, Rights in the Context of Traditional Medicine*. Geneva: WHO, 2001. [WHO/EDM/TRM/2001.1]

PÁGINAS DA INTERNET DE INTERESSE

<http://www.saude.gov.br> [Ministério da Saúde]

<http://www.anvisa.gov.br> [Agência Nacional de Vigilância Sanitária]

<http://www.in.gov.br> [Imprensa Nacional – Diário Oficial da União]

PRODUTOS DE ORIGEM VEGETAL E O DESENVOLVIMENTO DE MEDICAMENTOS

AUTORES

Eloir Paulo Schenkel
Grace Gosmann
Pedro Ros Petrovick

SUMÁRIO DO CAPÍTULO

1. Introdução
2. Importância histórica de plantas medicinais para a terapêutica
3. Plantas como fonte de matérias-primas farmacêuticas
4. Substâncias ativas de plantas como protótipos de fármacos
5. Plantas medicinais como matéria-prima para a preparação de fitoterápicos
6. Considerações finais
7. Referências bibliográficas
8. Sugestões para leitura

1. INTRODUÇÃO

Os vegetais fazem parte da vida do homem desde seus primórdios como fonte de alimentos, de materiais para o vestuário, habitação, utilidades domésticas, defesa e ataque, na produção de meios de transporte, como utensílios para manifestações artísticas, culturais e religiosas e como meio restaurador da saúde. Sua importância, medida pela intensidade de seu uso, tem assumido, nos diversos estágios de desenvolvimento da sociedade, altos e baixos. Nos dias de hoje representam uma das alternativas entre as diversas fontes de insumos necessários à existência da sociedade, tendo como principal vantagem o fato de ser uma fonte renovável e, em grande parte, controlável pelo gênio humano.

Neste capítulo será abordada a importância de plantas para o desenvolvimento e obtenção de medicamentos. Frequentemente esta questão é abordada de forma mais ampla, abrangendo também a importância de metabólitos obtidos de bactérias e fungos, que devem ser contemplados quando o tema for relacionado com produtos naturais e o desenvolvimento e obtenção de fármacos. Não obstante a opção de delimitar a abordagem, é necessário lembrar que importantes substâncias ativas foram desenvolvidas a partir de bactérias e fungos, tais como a maioria dos antimicrobianos atualmente em uso (penicilinas, cefalosporinas, tetraciclina, aminoglicosídeos, entre outros) e, mais recentemente, substâncias de

outras classes, como imunossupressores e hipoglicemiantes (ver por ex. Berry et al. 1993; Shu, 1998). Igualmente, toxinas e venenos de animais constituem fontes importantes, não apenas para o desenvolvimento de fármacos, mas também como ferramentas que conduziram a descobertas importantes sobre mecanismos fisiológicos e de ação de medicamentos (ver por ex. Dufton, 1993; Teuscher e Lindequist, 1994). Ainda, mais recentemente metabólitos obtidos de organismos marinhos também passaram a constituir importante fonte para a obtenção de novas substâncias ativas (ver por ex. Marderosian e Liberti, 1988; Fenical, 1997 e capítulo "Productos naturales de origen marina").

Nesta abordagem, delimitada à utilização de vegetais, e não apenas a plantas medicinais, como fonte para a obtenção ou desenvolvimento de medicamentos, serão contemplados os aspectos apontados a seguir:

- Importância histórica de plantas medicinais para a terapêutica;
- Plantas como fonte de matérias-primas farmacêuticas;
- Substâncias ativas de plantas como protótipos de fármacos;
- Plantas medicinais e o desenvolvimento de fitoterápicos.

A importância de plantas para obtenção de matérias-primas ou desenvolvimento de outras classes de substâncias ativas não especificamente farmacêuticas, não está sendo contemplada.

2. IMPORTÂNCIA HISTÓRICA DE PLANTAS MEDICINAIS PARA A TERAPÊUTICA

Até o século XIX, os recursos terapêuticos eram constituídos predominantemente por plantas e extratos vegetais, o que pode ser ilustrado pelas Farmacopéias da época. Assim, na *Farmacopéia Geral para o Reino e Domínios de Portugal* (1794), entre os produtos chamados *simplices* constam 30 produtos de origem mineral, 11 produtos de origem animal (tabela 1) e cerca de 400 espécies vegetais, algumas das quais citadas na tabela 2. Ou seja, as plantas medicinais e seus extrativos constituíam a maioria dos medicamentos, que naquela época pouco se diferenciavam dos remédios utilizados na medicina popular. A tabela indica ainda que estes constituíam a parte qualitativamente mais importante dos recursos terapêuticos da época, já que muitas das espécies citadas resistiram à ação do tempo e da crítica científica, estando presentes em farmacopéias mais recentes.

TABELA 1
Drogas de origem mineral e animal constantes
da *Pharmacopeia Geral para o Reino e Domínios de Portugal* (1794)

Nome*	Designação latina*	Especificação*
afambré	<i>Succinum electricum</i>	bitume
âmbar	<i>Ambra ambrosiaca</i>	-
antimônio	<i>Stibium striatum</i>	semimetal
azougue (mercúrio)	<i>Mercurius vivus Off.</i>	metal
bolo	<i>Bolus Off.</i>	terra barrenta
cal viva	<i>Calx viva Off.</i>	terra
chumbo	<i>Plumbum Off.</i>	metal imperfeito
cobre (verdete)	<i>Cuprum</i>	metal imperfeito
enxofre	<i>Sulphur Off.</i>	mineral
esponja	<i>Spongia Off.</i>	verme zoophyto
estanho	<i>Stannum Off.</i>	metal imperfeito
ferro	<i>Mars Off.</i>	metal imperfeito
nítro (salitre)	<i>Kali nitratum</i>	sal neutro perfeito
óleo de vitríolo (ácido vitríolo)	<i>Oleum vitrioli</i>	sal ácido mineral
pedra calaminar	<i>Zincum calaminaris</i> <i>Lapis calaminaries Off.</i>	mina de zinco em cal
pedra hume	<i>Alumen Off.</i>	sal neutro térreo
petróleo (azeite de pedra)	<i>Petroleum Off.</i>	bitume líquido
sal amoníaco	<i>Sal ammoniacum Off.</i>	sal neutro perfeito
sal cathartico amargo (de Epsom)	<i>Natrum Fontanum</i>	sal neutro térreo
sal commun	<i>Sal commune Off.</i>	sal neutro perfeito
tártaro (sarro de vinho)	<i>Tartarus crudus Off.</i>	sal essencial ácido
tinical (trincal/bórax)	<i>Borax Veneta Off.</i>	sal neutro imperfeito
vinagre	<i>Acerum Off.</i>	sal ácido líquido
vitríolo branco (vitríolo de zinco)	<i>Vitriolum Album; zincum vitriolatum</i>	sal neutro metálico
vitríolo de cobre (vitríolo de Chypre)	<i>Vitriolum cyprinum; Cuprum vitriolatum</i>	sal neutro metálico
vitríolo de ferro	<i>Vitriolum ferri</i>	sal neutro metálico
zinco	<i>Zincum Off.</i>	semimetal
almáscar	<i>Moschus moschiferus</i>	-
cantharidas	<i>Meloe vesicatorius</i>	inseto
castoreo	<i>Castor fiber</i>	animal quadrúpede
cera	<i>Cera Off.</i>	óleo fixo coalhado
concha de ostras	<i>Ostrea Edulis</i>	-
corno de veado ou cervo	<i>Cervus elaphus</i>	animal quadrúpede
mel	<i>Mel officinalis</i>	-
ovo	<i>Ovum gallinaceum</i>	-
sebo	<i>Sevum Ovillum</i>	óleo fixo animal coalhado
spermaceti ou sebo de baleia	<i>Physeter Macrocephalus</i>	óleo fixo animal coalhado

* Nomenclatura, designação latina e especificação mantidas conforme o original.

No início do século passado, esses recursos começaram a ser estudados com os instrumentos científicos da época e se estabeleceu paulatinamente a tendência de utilização das substâncias ativas isoladas, os chamados “princípios ativos”, resquício da linguagem alquimista da época. O uso da quinina em lugar de extratos de quina e da digoxina ou digitoxina em lugar de extratos de *Digitalis* se impuseram pelas vantagens relativas à reprodu-

TABELA 2

Drogas de origem vegetal constantes da *Pharmacopeia Geral para o Reino e Domínios de Portugal* (1794) e indicação da sua presença nas edições da Farmacopéia Brasileira

Nome vulgar*	Nome científico*	Parte usada	Farm Bras
abutua	<i>Cissampelus pareira</i> L.	raiz	II
açafraão	<i>Crocus sativus</i> L.	estigma	I
acônito	<i>Aconitum napellus</i> L.	folhas	I, II, III
agrião	<i>Nasturtium aquaticum</i> L.	erva recente	I
alcaçuz	<i>Glycyrrhiza glabra</i> L.	raiz	I, II, III
alcanfor	<i>Laurus camphora</i> L.	-	I, II
alecrim	<i>Rosmarinus officinalis</i> L.	folhas, flores	I
alho	<i>Allium sativum</i> L.	raiz	I
azevre succotrino	<i>Aloe spp.</i>	resina	I, II, III
bálsamo peruviano	<i>Myroxylon peruiferum</i> L.f.	bálsamo	I, II
bardana	<i>Arctium lappa</i> L.	raiz	I
beijoim	<i>Stryx benzoin</i> Dryand.	bálsamo	I, II
bistorta	<i>Polygonum bistorta</i> L.	raiz	I
cacau	<i>Theobroma cacao</i> L.	sementes	I, II
calamo aromático	<i>Acorus calamus</i> L.	raiz	I
cochlearia	<i>Cochlearia officinalis</i> L.	erva recente	I
colchico	<i>Colchicum autumnale</i> L.	raiz recente	I, II, III
cominho	<i>Cuminum cyminum</i> L.	sementes	-
contraherva	<i>Dorstenia contrayerva</i> L.	raiz	-
cravo da índia	<i>Caryophyllus aromaticus</i> L.	flor	I, II
dedaleira	<i>Digitalis purpurea</i> L.	folhas	I, II, III
dente de leão	<i>Leontodon taraxium</i> L.	raiz	-
doçamarga	<i>Solanum dulcamara</i> L.	talos, folhas	I
erva doce	<i>Pimpinella anisum</i> L.	semente	I, II
espinha cervina	<i>Rhamnus catharticus</i> L.	baga	I, II, III
funcho	<i>Foeniculum vulgare</i> Mill.	raiz	I, II
genciana	<i>Gentiana lutea</i> L.	raiz	I, II, III
gingibre	<i>Zingiber commune</i>	raiz	I
guaiaco	<i>Guayacum officinale</i> L.	goma	I
ipecacunha	<i>Psychotria emetica</i> L.	raiz	I, II, III
losna	<i>Artemisia absinthium</i> L.	erva	I
malva	<i>Malva sylvestris</i> L.	folhas	I, II
marcella galega	<i>Matricharia chamomilla</i> L.	erva com flor	I, II
marcella romana	<i>Anthemis nobilis</i> L.	flores	I
marmelo	<i>Pyrus cydonia</i> L.	fruto, sementes	I
quassia	<i>Quassia amara</i> L.	raiz	I
quina	<i>Cinchona officinalis</i> L.	casca	I, II, III
ruibarbo	<i>Rheum palmatum</i> L.	raiz	I, II
salsaparilha	<i>Smilax salsaparilla</i> L.	raiz	I
sassafraz	<i>Laurus sassafraz</i> L.	lenho, casca	I, II
senega	<i>Polygala senega</i> L.	Raiz	I, II
senne de Alexandria	<i>Cassia lanceolata</i> Colad.	frutinhas	I, II, III
tamarindos	<i>Tamarindus indica</i> L.	fruto	I
tomilho	<i>Thymus vulgaris</i> L.	erva	I, II

* Nomenclatura mantida conforme o original

tabilidade dos efeitos, ou seja, pela constância da composição, maior eficácia, segurança e mesmo da qualidade dos produtos, visto a maior facilidade de estabelecer especificações para uma substância única, em relação a uma mistura complexa de substâncias. Nesta época toma impulso, a partir do estudo de plantas, a química orgânica. A síntese da uréia pelo químico alemão Wohler em 1807 derruba a crença sobre a impossibilidade do homem em preparar compostos orgânicos e estabelece o início da síntese orgânica. As descobertas das substâncias ativas presentes nas plantas medicinais avançaram, junto com o início da síntese orgânica, uma revolução científica e tecnológica, alterando muito rapidamente o arsenal terapêutico. Por exemplo, em 1897 Kolbe sintetiza o ácido acetilsalicílico, inspirado na salicina, tida como substância ativa de *Salix alba* L. Essas substâncias exerceram ainda um papel significativo para o desenvolvimento da farmacologia como ferramentas para desvendar mecanismos fisiológicos. É ilustrativo dessa contribuição a utilização, já em 1870, da pilocarpina por John N. Langley, em experimentos com animais, verificando a indução da produção de saliva pelas glândulas salivares, efeitos esses bloqueados pela atropina, o que levou a proposta, muito antes do conhecimento do neurotransmissor acetilcolina, de que as duas substâncias atuariam sobre os mesmos sítios (Witkop, 1981). Igualmente, a nicotina e a tubocurarina foram ferramentas decisivas para o conhecimento da neurotransmissão na junção neuromuscular e para o conhecimento dos receptores nicotínicos.

3. PLANTAS COMO FONTE DE MATÉRIAS-PRIMAS FARMACÊUTICAS

Partindo-se do pressuposto de que a forma farmacêutica é constituída por uma ou mais substâncias ativas, responsáveis pela ação terapêutica, e por adjuvantes, substâncias que viabilizam a administração e a manutenção da qualidade do medicamento, deve-se considerar a contribuição dos vegetais como fornecedores de insumos para estas duas classes de matérias-primas farmacêuticas.

Apesar do desenvolvimento nas áreas de síntese orgânica, microbiologia industrial, biologia molecular, parte dos fármacos permanece sendo obtida a partir de matérias-primas vegetais, seja pela dificuldade em obter sinteticamente moléculas com a mesma estereoquímica, por exemplo em fármacos como artemisinina, seja pela inviabilidade econômica, no caso de substâncias para as quais a síntese total já foi desenvolvida em laboratório, como o paclitaxel. Uma lista não exaustiva, mas sim ilustrativa de fármacos com importância terapêutica atual, obtidos exclusivamente de matérias-primas vegetais, é apresentada na tabela 3.

TABELA 3
Exemplos de fármacos obtidos a partir de matérias-primas vegetais

Fármaco	Classe terapêutica	Espécie vegetal
artemisinina	antimalárico	<i>Artemisia annua</i> L.
atropina	anticolinérgico	<i>Atropa belladonna</i> L.
capsaicina	anestésico tópico	<i>Capsicum</i> spp.
colchicina	antirreumático	<i>Colchicum autumnale</i> L.
digoxina, digitoxina	glicosídeos cardíacos	<i>Digitalis purpurea</i> L., <i>D. lanata</i> Ehrhart
escopolamina	antiparkinsoniano	<i>Datura</i> spp.
emetina	antiamebiano	<i>Psychotria ipecacuanha</i> (Brot.) Stokes
estrofantina (ouabaina)	glicosídeos cardíacos	<i>Strophanthus</i> spp.
fisostigmina	antiglaucumatoso	<i>Physostigma venenosum</i> Balf.
morfina, codeína	analgésico, antitussígeno	<i>Papaver somniferum</i> L.
pilocarpina	antiglaucumatoso	<i>Pilocarpus jaborandi</i> Holmes
quinina	antimalárico	<i>Cinchona</i> spp.
reserpina	anti-hipertensivo	<i>Rauvolfia</i> spp.
tubocurarina	bloqueador neuromuscular	<i>Chondrodendron tomentosum</i> Ruiz et Pav.
vimblastina, vincristina	antitumorais	<i>Catharanthus roseus</i> (L.) G. Don

Em muitas outras situações, envolvendo fármacos que não ocorrem na natureza, a sua obtenção foi facilitada, ou tornou-se economicamente viável apenas a partir da descoberta de substâncias que puderam ser utilizadas como precursores na sua síntese. Exemplo clássico é o dos anticoncepcionais hormonais, preparados a partir de matérias-primas vegetais de onde se extraem substâncias esteroidais como diosgenina e solasodina (capítulo “Alcalóides esteroidais”), ou ainda a partir de esteróides como o estigmasterol. Esses exemplos são apresentados sumariamente na tabela 4. Uma clara demonstração da potencialidade da utilização de sintons obtidos a partir de matérias-primas vegetais é apresentada no capítulo “O uso de matérias-primas vegetais para a síntese de fármacos”.

TABELA 4
Exemplos de matérias-primas vegetais utilizadas na semi-síntese de fármacos

Matéria-prima	Fármacos	Espécies vegetais
10-desacetilbacatina III	paclitaxel, docetaxel	<i>Taxus</i> spp.
diosgenina	hormônios esteroidais	<i>Dioscorea</i> spp.
hecogenina	hormônios esteroidais	<i>Agave</i> spp.
podofilotoxina	etoposídeo, teniposídeo	<i>Podophyllum</i> spp.
escopolamina	N-butilescopolamina	<i>Datura</i> spp.
estigmasterol	hormônios esteroidais	<i>Glycine max</i> (L.) Merr.
catarantina e vindolina	vimblastina, vinorelbina	<i>Catharanthus roseus</i> (L.) G. Don

Grande parte dos adjuvantes farmacêuticos empregados nos dias de hoje são de origem vegetal (Hoepfner et al., 2002) (tabela 5). O entendimento do modo de ação destas substâncias conduziu ao surgimento de derivados semi-

sintéticos, nos quais foram salientadas certas propriedades das moléculas originais através de modificações estruturais, como é o caso dos derivados da celulose (Lima Neto e Petrovick, 1997).

TABELA 5
Exemplos de adjuvantes farmacêuticos de origem vegetal

Adjuvante	Função principal	Fonte vegetal
amido e derivados	aglutinante e desagregante	<i>Zea mays</i> L., <i>Solanum tuberosum</i> L.
celulose e derivados	aglutinante, desagregante, formador de gel, espessante, filmógeno, modificador da cedência	<i>Pinus</i> spp., <i>Eucalyptus</i> spp.
óleos fixos	veículo	<i>Arachis hypogaea</i> L., <i>Olea europaea</i> L.
óleos voláteis (essências)	adequadores e corretivos organoléuticos	<i>Citrus</i> spp., <i>Mentha</i> spp.
cera de carnaúba	excipiente de formas farmacêuticas semi-sólidas	<i>Copernicia prunifera</i> (Miller) H.E. Moore
esteviosídeo	edulcorante	<i>Stevia rebaudiana</i> (Bertoni) Bertoni
sacarose	edulcorante, estruturador de xaropes, material de cobertura de drágeas	<i>Saccharum officinarum</i> L.
etanol	veículo	<i>Saccharum officinarum</i> L.
goma guar	aglutinantes, formadores de gel, espessantes	<i>Cyamopsis tetragonolobus</i> Taub.
goma caraiá	aglutinante, formador de gel, espessante	<i>Sterculia tomentosa</i> Guill. et Perr.
ácido alginico e derivados	aglutinante, formador de gel, espessante	<i>Fucus vesiculosus</i> L.
pectinas	aglutinante, formador de gel, espessante	<i>Citrus</i> spp.
manteiga de cacau	base de supositórios	<i>Theobroma cacao</i> L.

4. SUBSTÂNCIAS ATIVAS DE PLANTAS COMO PROTÓTIPOS DE FÁRMACOS

A importância histórica das substâncias ativas obtidas de plantas como protótipo para o desenvolvimento de fármacos pode ser sucintamente demonstrada pela cronologia constante na tabela 6 (Rocha e Silva, 1973). É importante ressaltar que, em muitas situações, a descoberta da atividade dessas substâncias não representou apenas o surgimento de um grupo novo de substâncias, mas originou a identificação de uma nova possibilidade de intervenção terapêutica. Exemplificando, não se conheciam anestésicos locais, bloqueadores musculares, anticolinérgicos, entre outras categorias terapêuticas, antes do isolamento e estudo da atividade da cocaína, tubocurarina e atropina respectivamente. A terapêutica atual seria muito pobre, não tivesse ocorrido a descoberta dessas substâncias ativas.

TABELA 6
Cronologia da descoberta de fármacos protótipos
de categorias terapêuticas, a partir de plantas

Gênero	Fármaco	Data do isolamento	Categoria terapêutica
<i>Digitalis</i>	digitoxina	1785-1875	cardiotônico
<i>Papaver</i>	morfina	1805	hipnoanalésico
<i>Cinchona</i>	quinina	1820	antimalárico
<i>Atropa</i>	atropina	1833	anticolinérgico
<i>Physostigma</i>	fisostigmina	1864	anticolinesterásico
<i>Pilocarpus</i>	pilocarpina	1875	colinérgico
<i>Ephedra</i>	efedrina	1887	adrenérgico
<i>Erythroxylon</i>	cocaína	1895	anestésico local
<i>Chondrodendrum</i>	tubocurarina	1895	bloqueador neuromuscular
<i>Claviceps</i>	ergotamina	1922	bloqueador adrenérgico
<i>Melilotus</i>	dicumarol	1941	anticoagulante
<i>Rauvolfia</i>	reserpina	1952	neuroléptico

Após essa fase, em que os protótipos obtidos a partir de vegetais desempenharam um papel relevante, parece ter ocorrido um período de abandono destas linhas de pesquisa a partir dos anos 60, talvez pela consideração de já terem sido isoladas as principais substâncias ativas das drogas vegetais conhecidas, configurando uma situação de *esgotamento dos protótipos*, e mesmo de esgotamento das possibilidades de modificações químicas daqueles protótipos já conhecidos (Sarett, 1979). Contrariando essa tese, compostos conhecidos há muito tempo vem sendo re-investigados quanto a novas propriedades, como exemplifica a realização recente de ensaios clínicos com a fisostigmina e galantamina em doença de Alzheimer (Shu, 1998).

Em relação ao argumento de *esgotamento dos protótipos* pode ainda ser contraposto que até o presente têm sido isoladas principalmente as substâncias ativas das plantas medicinais de origem européia e daquelas que passaram a constituir produtos de exportação, e especificamente aquelas de mais fácil separação/isolamento e elucidação estrutural, ou ainda de comprovação de atividade mais fácil frente aos modelos já conhecidos para a detecção da atividade biológica. Nesse sentido pode ser mencionado o isolamento e elucidação estrutural de taninos, saponinas, polissacarídeos, polipeptídeos e proteínas, substâncias pouco estudadas no passado.

Argumentos a parte, o fato a registrar é que ocorreu após a década de 60 um decréscimo de interesse e de investimentos por parte da indústria farmacêutica e institutos de pesquisa (Sarett, 1979; Kingston, 1996), os quais estariam relacionados com a percepção de desvantagens como o lento desenvolvimento e alto custo, para chegar aos componentes ativos, devido aos processos trabalhosos para a separação e purificação desses constituintes e a sua elucidação estrutural, eventualmente conduzindo a substâncias já conhecidas ou ao insucesso na re-obtenção de quantidade suficiente para ensaios farmaco-

lógicos e toxicológicos, bem como à dificuldade ou à impossibilidade de sintetizar a molécula ativa, com perda de investimentos significativos.

Por outro lado, têm sido constantemente destacadas como vantagens, na busca de protótipos a partir de produtos naturais, a singularidade das moléculas obtidas, como por exemplo os alcalóides de *Catharanthus* e os terpenóides paclitaxel, hiperforina e gincolídeos, citados adiante, com ceticismo quanto à possibilidade de obtenção dessas moléculas através de outras abordagens. Outra vantagem destacada é que freqüentemente são obtidas moléculas com novos mecanismos de ação, como no caso dos antitumorais utilizados a seguir como exemplos.

Além disso, muitas das desvantagens apontadas para a busca de novos fármacos a partir de produtos naturais estão sendo ultrapassadas através de avanços técnicos significativos, principalmente a partir dos anos 80, tanto no desenvolvimento de métodos novos de *screening*, como nas técnicas de isolamento e eludidação estrutural. Os novos métodos de *screening* permitem em pouco tempo a avaliação de um número elevado de amostras (*high throughput screening*) quanto à atividade sobre alvos específicos, enzima, receptor, determinada célula ou organismo. Modelos desse tipo, por exemplo inibição da enzima 3-hidróxi-3-metil-glutaril-CoA redutase, enzima chave na biogênese do colesterol, permitem avaliação de milhares de amostras em alguns dias (Hook et al. 1997). Os desenvolvimentos alcançados nas técnicas cromatográficas e nas técnicas de elucidação estrutural, particularmente relacionados com a Ressonância Magnética Nuclear (RMN) e Espectrometria de Massas (EM) também têm sido considerados como capazes de acelerar a obtenção de novos protótipos, em dependência dos recursos investidos. As novas técnicas tornaram mais fáceis e rápidas tarefas que condicionavam um lento desenvolvimento dos projetos. O uso de técnicas combinadas (para uma revisão recente, ver Hostettmann et al., 1997), rotineiro na análise de óleos voláteis através da aplicação da CG/EM associada a banco de dados, se ampliou, inicialmente através da combinação CLAE/UV, e mais recentemente através das combinações CLAE/EM e CLAE/RMN. Essas novas possibilidades analíticas permitem esperar maior rapidez na busca de novas substâncias ativas e, também muito importante, permitem obter rapidamente informações preliminares sobre constituintes em amostras complexas como os extratos vegetais, como o reconhecimento de moléculas já conhecidas, que de outro modo demandariam investimentos em tempo e recursos materiais para os processos de isolamento e identificação. Também é de se destacar o desenvolvimento de bioensaios simplificados, passíveis de utilização em bancadas de laboratórios de química (Hamburger e Hostettmann, 1991; McLaughlin et al., 1993) e portanto de serem utilizados para direcionar a seleção de extratos, frações e substâncias a serem isoladas, e mesmo a combinação de bioensaios com técnicas cromatográficas, especialmente com a utilização de CLAE, unindo téc-

nicas de separação e detecção de atividade biológica, como já bem estabelecido para a detecção de atividade antifúngica sobre CCD (bioautografia).

Conforme a avaliação de diversos pesquisadores da área (O'Neill e Lewis, 1993; Kingston, 1996; Hook et al., 1997; Hostettmann et al., 1997; Shu, 1998), tais desenvolvimentos têm determinado o ressurgimento do interesse na investigação de produtos naturais como possíveis fontes de novos protótipos. Especificamente em relação a plantas medicinais, a incorporação de novos antitumorais à terapêutica tem sido apontada como argumento demonstrativo dessa potencialidade e, de fato, nas últimas décadas, as descobertas de maior impacto nessa área têm origem na investigação de produtos de origem vegetal, tendo fornecido um número significativo de substâncias ativas que chegaram à fase de ensaios clínicos (Cragg et al., 1997). Alguns dos compostos testados são atualmente de uso clínico como a vincristina, vimblastina, vindesina, vinorelbina, etoposídeo, teniposídeo, topotecano, irinotecano, paclitaxel e docetaxel. A história do desenvolvimento de alguns desses fármacos é comentada sucintamente a seguir.

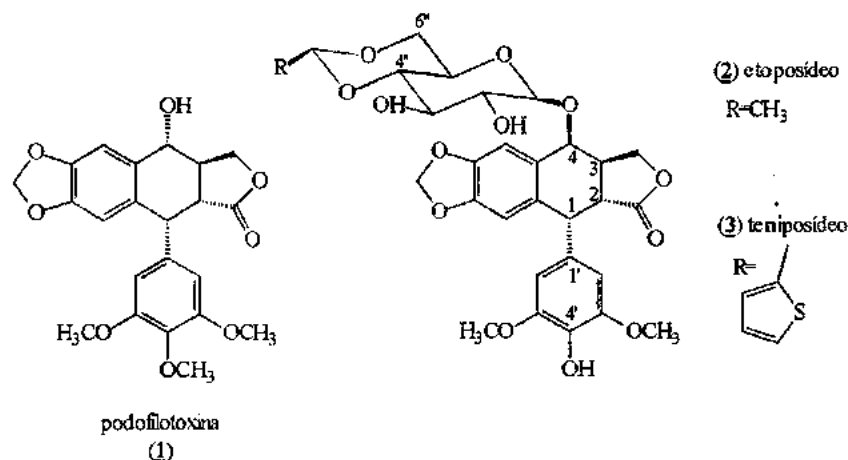
Derivados da podofilotoxina

A podofilotoxina (1) é uma lignana isolada da resina do rizoma de duas espécies de *Podophyllum* (Berberidaceae): *P. peltatum* L., originária dos Estados Unidos e *P. hexandrum* Royle (= *P. emodi* Wall.), originária da Índia (Hartwell e Schrecker, 1951; Nadkarni et al., 1953) (ver capítulo "Lignanais, neo-lignanais e seus análogos"). O uso da podofilina (extrato alcoólico dos rizomas de *Podophyllum*) no tratamento de condilomas em humanos foi publicado em 1942 por Kaplan, verificando-se, posteriormente, que esta possuía ação semelhante à da colchicina. A ação farmacológica da podofilotoxina é devida à inibição da polimerização da tubulina em microtúbulos, e portanto, bloqueio da divisão celular no início da metáfase (Sackett, 1993). No entanto, a utilização terapêutica sistêmica da podofilotoxina é inviabilizada pela sua forte toxicidade, que inclui problemas gastrintestinais, renais, do sistema nervoso central e hepático. Apesar disso, a podofilina é utilizada como agente antimetabólico principalmente no tratamento tópico de condilomas externos pequenos, ou como queratolítico. A aplicação tópica da podofilotoxina não deve atingir tecidos sãos devido à sua ação muito irritante para a pele, olhos e mucosas (Beutner e von Krogh, 1990).

Uma série de modificações químicas foi realizada na tentativa de produzir análogos da podofilotoxina com menor toxicidade e boa biodisponibilidade. O desenvolvimento de produtos ocorreu na indústria farmacêutica Sandoz a partir de 1950, onde foram preparados centenas de derivados, os quais foram testados em modelos *in vitro* e *in vivo*. Esses estudos levaram à introdução no mercado, em 1963, dos glicosídeos de derivados da podofilotoxina condensados com benzaldeído que não são mais utilizados na terapêutica.

Posteriormente foram introduzidos outros derivados, os acetais cíclicos como o teniposídeo (2) e o etoposídeo (3) (Stähelin e von Wartburg, 1991). Apesar dos esforços realizados na obtenção de análogos, estes são os únicos derivados com interesse clínico atualmente. Estes dois derivados semi-sintéticos da podofilotoxina são utilizados na terapêutica como antitumorais. Ao contrário da colchicina e da podofilotoxina, eles são inativos no processo de polimerização da tubulina agindo ao nível do ADN por inibição das topoisomerasas II, estabilizando o complexo enzima-ADN e impedindo a replicação (Pratt et al., 1994; Husson e Becker, 1995).

As indicações clínicas do etoposídeo são, principalmente, os cânceres dos brônquios de pequenas células e os tumores embrionários de testículo. Para o teniposídeo, são certos linfomas e tumores cerebrais.



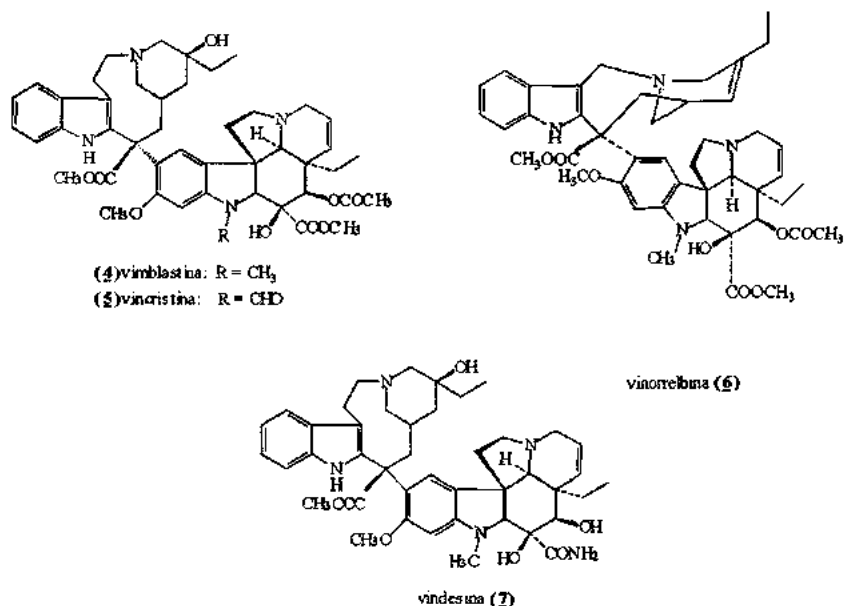
Alcalóides da vinca e seus derivados

Diversos usos terapêuticos eram atribuídos popularmente para *Catharanthus roseus* (L.) G. Don (Apocynaceae), pequena planta conhecida como vinca. No final da década de 50, ao ser investigada a atividade hipoglicemiante de seus extratos, foi verificada a diminuição da produção de células brancas pela medula óssea (leucopenia). Posteriormente, o isolamento dos alcalóides da vinca foi relatado, entre os quais, aqueles responsáveis pela atividade antitumoral, os alcalóides binários vimblastina (4) e vincristina (5) (Blaskó e Cordell, 1990; McCormack, 1990) (ver capítulo "Alcalóides indólicos").

Devido ao grande interesse despertado pela possibilidade de utilização desses compostos em quimioterapia, diversos estudos de biossíntese e biotransformação e de síntese de análogos foram realizados, de modo a facilitar sua

obtenção e propiciar o desenvolvimento de novas substâncias com utilização terapêutica (Lounasmaa e Nemes, 1982; Kutney, 1990; Pearce, 1990).

Um recente derivado semi-sintético é a vinorelbina (6) (Navelbina®) que foi obtida a partir de uma síntese biomimética que consiste em unir os dois precursores dos alcalóides da vinca, vincristina e vimblastina, que são a catarantina e a vindolina (Mangency et al., 1979). A vinorelbina é um fármaco utilizado no tratamento de cânceres pulmonares ditos não de pequenas células e cânceres de mama. A vincristina e a prednisona (fármaco corticóide) são parte importante do esquema terapêutico para indução da remissão de leucemias agudas em adultos e crianças. A vimblastina é utilizado no tratamento do linfoma de Hodgkin, possuindo atividade antitumoral similar à vincristina mas menor neurotoxicidade. Ainda outro derivado sintético, a vindesina (7), tem atividade terapêutica comparável à vincristina no tratamento de leucemias agudas. Os alcalóides da vinca e seus derivados, assim como a colchicina e a podofilotoxina agem por ligação específica com a tubulina e inibem sua polimerização (Rowinsky e Donehower, 1991; Pratt et al., 1994; Husson e Becker, 1995).

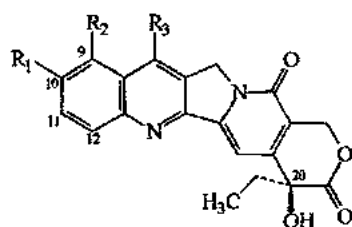


Derivados da camptotecina

A camptotecina (8) e o paclitaxel derivam de *screening* desenvolvido no National Cancer Institute (NCI/USA), onde centenas de milhares de extratos (talvez 500 mil) foram avaliados. *Camptotheca acuminata* Decne. (Nyssaceae) é uma árvore chinesa, para a qual foi verificada atividade antitumoral para o

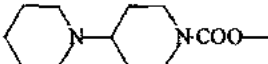
extrato etanólico do tronco no final da década de 50. O isolamento de sua substância ativa - a camptotecina, e a preparação de análogos foram desenvolvidos pelo Laboratório *Research Triangle Institute* (USA) a partir de 1963, e os ensaios clínicos preliminares foram realizados no início da década de 70. Como esses ensaios não foram muito promissores, o interesse clínico por esses compostos foi abandonado até 1988. Ao verificar-se que a baixa solubilidade da camptotecina não poderia ser resolvida pela utilização do seu sal sódico (há abertura da lactona e conseqüente perda da atividade) diversos derivados foram preparados. Desenvolveram-se, então, ensaios *in vivo* com os novos análogos e, em 1989, foram publicados resultados promissores com os compostos 9-amino-20(S)-camptotecina e 10,11-metilenodioxila-20(S)-camptotecina. Desde então, vários ensaios clínicos têm sido realizados, como por exemplo com o derivado 10-hidróxi-camptotecina produzido pela SmithKline Beecham, conhecido como topotecano (9), e o irinotecano (10), do laboratório Bellon. Esse último tem sido indicado para tratamento de pacientes com tumores colo-retais refratários à fluorouracila (Wall et al., 1966; Giovanella et al., 1989; Husson e Becker, 1995; Wiseman e Markham, 1996).

Esses fármacos são inibidores das topoisomerases do tipo I e, por apresentarem esse mecanismo de ação único, constituem uma alternativa nova para a terapêutica antitumoral.



(8) camptotecina: $R_1 = R_2 = R_3 = H$

(9) topotecano: $R_1 = OH$, $R_2 = CH_2N(CH_3)_2$, $R_3 = H$

(10) irinotecano: $R_1 =$ 

$R_2 = H$, $R_3 = CH_2CH_3$

Derivados do paclitaxel (Taxol®)

O paclitaxel (11) é considerado como o antitumoral mais promissor desenvolvido nos últimos 20 anos. Cabe ressaltar que sua atividade biológica foi detectada inicialmente na década de sessenta e o produto entrou no mercado quase 25 anos após. O isolamento do paclitaxel foi, como no exemplo anterior, realizado no *Research Triangle Institute* (USA) (Wani et al., 1971; Blechert e Guénard, 1990; Corrêa, 1995).

Vários problemas dificultaram o desenvolvimento desse fármaco e seus derivados:

1) baixa concentração na planta: apenas 100-300 mg/kg de paclitaxel nas cascas do tronco de *Taxus brevifolia* Nutt. (Taxaceae);

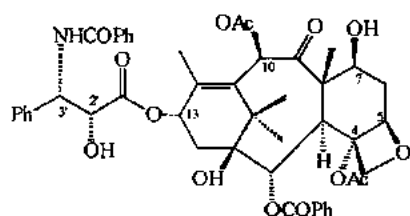
2) tempo de crescimento da árvore *Taxus brevifolia*: 60 a 100 anos para alcançar dimensões compatíveis com a exploração;

3) presença de 11 centros quirais: razão pela qual a síntese total foi desenvolvida apenas recentemente (Holton et al., 1994; Nicolaou et al., 1995), mas não é, ainda, economicamente viável;

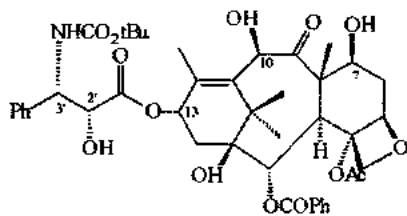
4) caráter lipofílico da molécula- impõe dificuldades na preparação de formulação adequada, pois é pouco solúvel nos veículos geralmente utilizados por via i.v.; a administração com Cremophor® EL ocasionou reações anafiláticas, provocando mortes nos primeiros ensaios, o que levou quase à desistência dos ensaios clínicos. No entanto, após alteração do modo de administração e utilização de pré-medicação antialérgica, o paclitaxel passou para a fase II do estudo clínico e resultados excelentes foram obtidos em pacientes com cânceres de ovário refratários a outros antitumorais e, adicionalmente, apresentou boa resposta para cânceres de mama, o que aumentou a sua demanda pela alta incidência destes tumores (Rowinsky e Donehower, 1991; Holmes et al., 1991).

Como a pouca abundância do paclitaxel é um dos problemas que pode impedir a sua utilização, estudos foram realizados com diversas partes da espécie européia *Taxus baccata* L. Assim, a 10-desacetil-baccatina III, composto ativo sobre a tubulina *in vitro*, foi isolado de suas folhas na quantidade de 0,5 a 1 g/kg. Este composto é inativo *in vivo* pela falta da cadeia lateral em C-13a, no entanto, pode ser utilizado como matéria-prima para a síntese do paclitaxel. Através da mesma rota sintética foi obtido um outro produto também importante: o docetaxel (Taxotere®) (12) (Denis et al., 1988; Guénard et al., 1993; Pazdur et al., 1993). Ainda na tentativa de desenvolver outros métodos de obtenção desses compostos, há relatos que *Taxomyces andreanae* e outros microorganismos produzem paclitaxel, e além disso, alguns grupos de pesquisa conseguiram obtê-lo a partir de cultura de células de *Taxus* (Stierle et al., 1993; Hezari e Croteau, 1997; Jha et al., 1998).

O paclitaxel e o docetaxel se ligam à tubulina e favorecem sua polimerização em microtúbulos, e por sua vez, inibem a despolimerização dos mi-



paclitaxel
(11)



docetaxel
(12)

crotúbulos em tubulina, impedindo assim o desaparecimento do fuso ao fim da divisão celular (Schiff et al., 1979).

5. PLANTAS MEDICINAIS COMO MATÉRIA-PRIMA PARA A PREPARAÇÃO DE FITOTERÁPICOS

O exposto até o momento neste capítulo conduz à aceitação do conceito de que plantas medicinais são todos os vegetais que têm emprego com fins terapêuticos, alicerçados no conhecimento popular ou no conhecimento científico. Como tal, são utilizadas das mais diversas formas na medicina popular e na medicina institucionalizada. Especificamente na produção de medicamentos, as formas mais generalizadas de utilização são as seguintes:

a) como fornecedora de substâncias ativas isoladas (*Digitalis lanata* Ehrh. → lanatosídeo C);

b) como extratos purificados ou selecionados, centrados em grupos específicos de substâncias (p. ex. *Ginkgo biloba* L. → gincolídeos e/ou flavonóides);

c) como extratos totais, padronizados em relação a uma substância, um grupo de substâncias ou a uma especificação determinada (p. ex. *Senna alexandrina* Mill. → glicosídeos antraquinônicos, calculados como senosídeo B) e

d) como droga, íntegra, rasurada ou moída, destinada à preparação extemporânea de infusos ou decoctos aquosos (chás).

Os quatro casos acima citados apresentam diferentes complexidades para o componente ativo da formulação e como tal devem ser entendidos. Portanto, os critérios de eficácia, segurança e atendimento a especificações técnicas devem ser completamente atendidos, observando-se as peculiaridades de cada caso.

Considerando as possibilidades b) c) e d), os medicamentos delas oriundos são classificados como produtos fitoterápicos e devem atender a exigências legais de cada país (ver capítulo “Normatização da produção e comercialização de fitoterápicos no Brasil”).

Assim como para os medicamentos contendo substâncias ativas isoladas, de qualquer origem, a tendência mundial é o do produto denominado monopreparado, contendo somente um componente ativo, justificada pela irracionalidade terapêutica da grande parte das associações de fármacos e do conseqüente aumento das dificuldades metodológicas de verificação da qualidade, também nota-se a mesma tendência para produtos fitoterápicos (Gesellschaft, 1988). Este último aspecto é mais realçado, quando os componentes ativos são constituídos de extratos totais ou parciais ou de drogas, já que cada uma delas contém uma composição complexa. Considera-se como pro-

duto fitoterápico monopreparado aquele medicamento constituído por somente uma planta medicinal, incluso nos casos b), c) e d) acima citados.

A tendência na terapêutica, desde a metade do século XIX, tem sido a utilização de substâncias isoladas em substituição aos extrativos vegetais que apresentam alguma propriedade terapêutica comprovada e tenham seus constituintes ativos identificados. Tal posicionamento leva em consideração vantagens como o asseguramento da constância de composição, ausência de qualquer outra substância ativa, além daquela determinante da atividade e maior facilidade para o controle da qualidade, em relação aos produtos de composição complexa e não conhecida completamente. Isso pode ser exemplificado através das vantagens da utilização da quinina em comparação com extratos de quina, cujo teor em quinina é variável de acordo com a região e época de coleta da droga vegetal, além da presença de cerca de 30 outros alcalóides minoritários, entre os quais a quinidina, de ação cardíaca marcante sendo, portanto, o asseguramento e a manutenção da constância de composição e da qualidade da preparação mais difícil, em relação a uma forma farmacêutica contendo exclusivamente quinina. Por essa razão, no período entre o isolamento da quinina (1820) e o final do século passado, estabeleceram-se na Europa 20 empresas para a produção da quinina. De forma semelhante, ao longo do tempo, a utilização de extrativos vegetais oriundos de espécies de *Digitalis* spp., *Papaver* spp., *Colchicum autumnale* L., *Atropa belladonna* L., *Rauvolfia serpentina* (L.) Benth. ex Kurz, *Pilocarpus jaborandi* L., *Psychotria ipecacuanha* (Brot.) Strokes (= *Cephaelis ipecacuanha* (Brot.) A. Rich), entre outras, foi substituída em maior ou menor grau pelo emprego das substâncias isoladas destas plantas, como: digoxina/digitoxina, morfina/codeína, colchicina, atropina, reserpina, pilocarpina e emetina, respectivamente.

Por outro lado, para muitos extrativos vegetais, apesar da investigação farmacológica pré-clínica e mesmo clínica ter indicado, em alguns casos, a existência de eficácia terapêutica, não foram descobertas as substâncias responsáveis. Entre outras hipóteses, tais situações poderiam ser explicadas pela existência de substâncias de difícil isolamento ou elucidação estrutural, por ex. polipeptídeos, proteínas, taninos, polissacarídeos ou outras classes de substâncias de estrutura complexa, pela interação entre algumas substâncias presentes no extrativo ou pela influência de determinado composto nos fenômenos de absorção ou solubilidade das substâncias ativas.

É importante salientar que a ação farmacológica é altamente dependente das especificações dos produtos empregados. Como um dos exemplos mais claros pode ser considerada a *genealogia* dos produtos oriundos do ópio (látex dessecado dos frutos imaturos de *Papaver somniferum* L.). O pó de ópio tem usos bem diferentes dos apresentados para a tintura de ópio (antiespasmódico para musculatura lisa) e mais ainda dos alcalóides isolados, tais como a morfina (analgésico de ação no sistema ner-

voso central) e a codeína (antitussígeno). Este aspecto revela de modo o mais evidente possível que, raramente, a uma planta medicinal podem ser imputadas indicações terapêuticas. O efeito farmacológico está ligado diretamente ao modo de emprego, onde a planta medicinal deve ser vista como a matéria-prima do remédio ou medicamento. Especialmente as condições de produção podem alterar a concentração das substâncias ativas e, por consequência, o efeito, a eficácia e a segurança terapêutica. Exemplos atuais, tais como produtos originados de hipérico ou ginko, demonstram este fato. Estas observações destacam a importância da avaliação de similaridade dos produtos fitoterápicos. Embora a matéria-prima ativa seja a mesma, os produtos obtidos possuem qualidades diferentes e como corolário, não podem ser considerados terapeuticamente equivalentes. Utilizando como exemplo produtos farmacêuticos de *Ginkgo biloba* L. existentes no mercado, tais como cápsulas de gelatina dura contendo pó das folhas, extrato seco obtido a partir de soluções extrativas hidroetanólicas e extrato seco obtido após passos especiais de concentração e purificação, pode-se chegar às seguintes conclusões:

1. os extratos secos são passíveis de possuir composição constante pelas metodologias de padronização; já no pó de folhas, a composição depende de vários fatores, tais como idade das folhas, época de coleta, local de coleta, condições climáticas próximas ao período de coleta, entre outros;

2. para os extratos secos existem relatos de estudos farmacológicos, em diferentes níveis;

3. considerando que a dose efetiva diária, indicada para o extrato especial, é de 120 a 240 mg (dependendo da indicação), o que corresponderia a quantidade de 26,4 a 64,8 mg de flavonóides, calculadas como quercetina ou canferol, isto representaria uma dose efetiva diária equivalente do extrato seco simples de 660 a 1.620 mg e, para o pó das folhas, de 6.000 a 12.000 mg (Dingermann, 1995). Tendo-se como base cápsulas de gelatina dura contendo 500 mg de pó das folhas, esta dose representaria, para o paciente, a ingestão de 12 a 24 cápsulas por dia;

4. o extrato especial possui, no máximo, 5 ppm de ácidos gincólicos, responsáveis pelo efeito alergênico enquanto que as doses correspondentes do extrato seco simples ou do pó das folhas ultrapassam em muito esta concentração (Feistel, 1994), presumindo um aumento da toxicidade.

Três exemplos de extrativos vegetais com indicações de eficácia derivada de ensaios clínicos, em que a atividade é atribuída a um conjunto de substâncias, ou em que as substâncias ativas não são ainda completamente conhecidas são apresentados a seguir. É de se destacar que a permanência ou entrada no mercado desses produtos, em uma época em que as exigências de segurança, eficácia e qualidade estabelecidas pelas agências regulamentadoras de medicamentos se tornaram mais rígidas, está relacionada com o desenvolvi-

mento de estudos científicos objetivando a obtenção de matérias-primas controladas, por exemplo através da consideração de substâncias marcadoras, bem como com o desenvolvimento de tecnologias apropriadas para a obtenção de extrativos vegetais.

Ginco – *Ginkgo biloba* L. é uma planta medicinal que atrai, até hoje, o interesse de diversas áreas das ciências. É a única representante viva do seu gênero (Report, 1996), cuja origem remonta ao Paleozóico Superior (cerca de 250 milhões de anos) (Robbers et al., 1996). Seu emprego, principalmente em doenças respiratórias na medicina popular chinesa, já era descrito em 2.800 a.C. (Squires, 1995) e tem evoluído com o passar dos tempos. Da aplicação de compressas das folhas, a ingestão de chás, tinturas, extratos espessos e secos, até a incorporação de produtos otimizados na obtenção de formas farmacêuticas sólidas, este vegetal é um dos exemplos mais consistentes do aprimoramento do conceito de produto fitoterápico e de estratégia terapêutica (Feistel, 1994). Comercialmente representou, na Europa, no ano de 1992, um mercado de 200 milhões de dólares (Sticher, 1993).

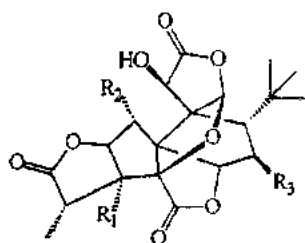
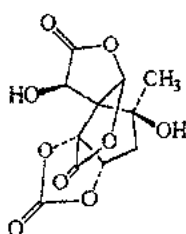
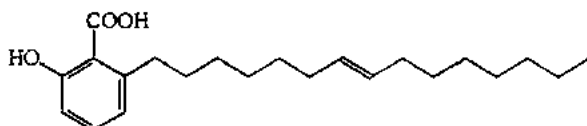
A matéria-prima consiste das folhas, cujos principais constituintes químicos podem ser classificados em cinco grupos majoritários: *terpenos*, tais como os diterpenos (gincólídeos (13)), sesquiterpenos (bilobalídeo (14)), triterpenos e poliprenóis; *flavonóides*, tais como flavonas, flavonóis e biflavonóides; *hidrocarbonetos de cadeia longa*; *derivados do ácido anacárdico* (ácidos gincólicos (15)) e *compostos nitrogenados de baixo peso molecular* (Feistel, 1994).

A metodologia de obtenção de produtos derivados das folhas do ginkgo conduz a fitoterápicos com diferentes composições, o que coloca em questão a aceitação da similaridade entre estes medicamentos, embora provenientes da mesma matéria-prima vegetal (Chatterjee, 1990). Sob a denominação "extrato de *Ginkgo*" podem ser encontrados no mercado produtos secos obtidos a partir de extratos simples hidroalcoólicos - metanol ou etanol - ou extratos especiais, obtidos através de uma sequência bem especificada de passos tecnológicos de enriquecimento e purificação (Sticher, 1993). Além do aumento da concentração de determinadas substâncias de interesse na eficácia (ver tabela 7), há a redução de outros que participam no efeito tóxico (*n*-alquilfenóis, como os gincóis e ácidos gincólicos) ou na estabilidade (biflavonóides) do produto (Hänsel, 1990). Estes resultados partiram da constatação de que extratos parciais, contendo substâncias que, em conjunto, participam da ação terapêutica em concentração mais elevada, demonstram uma nova tendência de estratégia na produção de matérias-primas e produtos fitoterápicos, com maior valor tecnológico agregado, indicações clinicamente comprovadas e constância de qualidade.

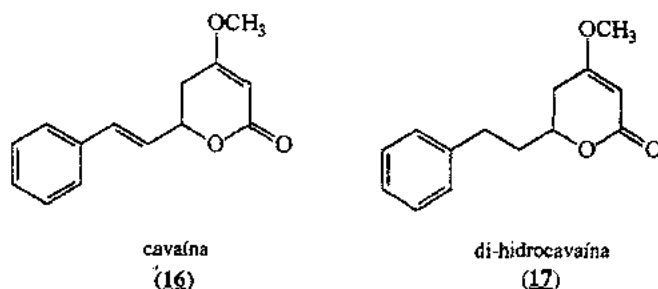
TABELA 7
Composição de constituintes marcadores
de dois produtos denominados “extrato de *Ginkgo*”

Constituintes	Extrato de <i>Ginkgo</i>	
	Extrato simples	Extrato especial
Flavonóides	4 (%)	24 (%)
Biflavonóides	2 (%)	0,1 (%)
Lactonas terpênicas	0,2 (%)	6 (%)
Ácidos gincólicos	1,5 (%)	<5 ppm
Ácidos orgânicos	2,5 (%)	9 (%)

Como mostra a tabela 7, o extrato especial de *Ginkgo* apresenta um teor 30 vezes maior em lactonas terpênicas, denominadas gincolídeos. A partir de 1984, com a comprovação de atividade potente e específica como antagonistas do PAF (fator de ativação plaquetária), importante agente mediador de reações inflamatórias em vários tipos de células (Braquet, 1987; Braquet e Hosford, 1991), os gincolídeos passaram a ser considerados importante componentes dos extratos. Com a ampliação do uso dos produtos, preconizados em distúrbios degenerativos possivelmente associados com insuficiente irrigação sanguínea cerebral, principalmente em geriatria, investigações bioquímicas, fisiológicas e farmacológicas têm sido realizadas e diversos mecanismos de ação propostos, entre os quais o aumento do fluxo sanguíneo em artérias, veias e capilares, alterações reológicas, com redução da viscosidade do sangue, estabilização da permeabilidade capilar, atividade antioxidante, com prevenção de danos nas membranas, e mudanças metabólicas, com maior tolerância à hipoxia (Report, 1996; Kleijnen, 1998; Van Dongen e Oken, 1998). Pelas possíveis aplicações em doenças vasculares periféricas, como claudicação intermitente e insuficiência cerebral (categoria diagnóstica abrangendo uma série de distúrbios frequentes em pessoas idosas), dezenas de ensaios clínicos foram realizados com produtos contendo os extratos padronizados com a composição explicitada na tabela 7, EGb 761 e LI1370. Embora esses ensaios clínicos apresentem qualidade variada (Kleijnen e Knipschild, 1992; Van Dongen e Oken, 1998), para alguns desfechos os resultados são promissores, como em claudicação intermitente (Schneider, 1992; Report, 1996) e mesmo em algumas formas de insuficiência cerebral (Hopfenmüller, 1994). Claramente, esses resultados não são extrapoláveis para produtos que não tenham a mesma composição e por essa razão, na Alemanha, a Comissão para Produtos Fitoterápicos (Comissão E) do Ministério da Saúde apresentou duas monografias negativas para preparados a base das folhas e vários tipos de extratos, especialmente hidroalcoólicos, de *Ginkgo biloba* L. (Blumenthal, 1998). Por outro lado, incluiu o extrato seco especial com as especificações acima, com base no grande número de estudos científicos e clínicos existentes (Foster, 1996).

gincolídeos
(13)bilobalídeo
(14)ácido gincólico
(15)

Cava-cava – as raízes e rizomas de *Piper methysticum* G. Forst. são de uso tradicional em algumas ilhas do Pacífico Sul, na preparação de bebida não fermentada e no tratamento da dor, neuralgia, convulsões, inquietude, insônia. Produtos contendo extratos, ou mesmo o pó de raízes e rizomas tem sido comercializados na Europa, com indicação em ansiedade e insônia. Estudos farmacológicos em animais indicaram ação sedativa, relacionada com a ativação da transmissão dopaminérgica e serotoninérgica na região mesolímbica, o que estaria associado com a redução da excitabilidade emocional e alterações comportamentais. Como substâncias responsáveis pela atividade no sistema nervoso central, foram isoladas lactonas denominadas cavalactonas. Estudos de biodisponibilidade foram realizados em animais, demonstrando a absorção e eliminação rápida das lactonas cavaína (16) e di-hidrocavaína (17). Produtos contendo racemato de cavaína sintético não podem ser vistos como análogos aos extratos do vegetal, já que a biodisponibilidade é altamente influenciada pelos demais componentes do extrato (Dingermann, 1995). São comercializados produtos contendo extratos etanólicos e principalmente o produto contendo um extrato acetônico, o qual representa uma preparação enriquecida com as cavalactonas (teor no extrato bruto de 5 a 8% e 70% no extrato enriquecido). Além das lactonas citadas, esses extratos contêm mais de uma dezena de outros derivados com a mesma estrutura básica, destacando-se a metisticina, a iangonina, a desmetóxi-iangonina e a di-hidrometisticina. O mecanismo de ação não é claro ainda, existindo na literatura relatos contraditórios sobre a interação das lactonas com o receptor GABA, com um trabalho indicando aumento dos sítios de ligação (modulação de receptores) (Jussotie et al., 1994), enquanto outro trabalho relata ausência de atividade sig-



nificativa nos sítios de ligação GABA-A e GABA-B e no sítio de ligação de benzodiazepínicos (Davies et al., 1992). Além da ação sobre o sistema gabaérgico, tem sido observada a influência sobre canais de sódio e de cálcio, bem como o envolvimento da transmissão dopaminérgica e serotoninérgica, que poderiam estar relacionadas com as ações ansiolíticas e sedativas (para uma revisão, ver Bilia et al, 2002 e referências citadas).

Ensaaios clínicos controlados com resultados positivos em ansiedade são descritos, com a preparação contendo 70 ou 100 mg de extrato enriquecido, administrado três vezes ao dia, pelo período de quatro semanas (Kinzler et al., 1991; Lehman et al., 1996). Embora esses resultados sejam promissores, estudos mais amplos, envolvendo maior número de pacientes são considerados necessários para estabelecer a efetividade nas indicações propostas, como medicamento sedativo e ansiolítico (Abell, 1997). Uma revisão sobre o conjunto de ensaios clínicos, através de uma meta-análise (Pittler e Ernst, 2000), indica eficácia maior que o placebo no tratamento da ansiedade, no entanto os próprios autores chamam a atenção para o baixo número de pacientes envolvidos na maioria desses estudos clínicos. De modo geral, nesses testes clínicos não foram detectadas reações adversas graves, sugerindo a segurança dos produtos estudados (Pittler e Ernst, 2000). No entanto, a partir de 1998 e principalmente em 2001 surgiram relatos de casos graves de toxicidade hepática, com fortes evidências de serem causados pela ingestão de produtos a base de cava-cava (Escher et al., 2001; Russmann et al. 2001), que determinaram a retirada do produto na Suíça e na Alemanha. Em outros países, como no Reino Unido, ocorreu a suspensão voluntária da comercialização dos produtos, enquanto a questão da toxicidade hepática não foi esclarecida. Em dezembro de 2001, nos Estados Unidos, a Agência FDA enviou carta aos profissionais da Saúde buscando informações sobre possíveis casos de toxicidade hepática associada ao uso da cava-cava e em março de 2002 advertiu consumidores e profissionais da saúde sobre a gravidade dos casos relatados, citando mais de 25 casos no exterior, quatro dos quais requerendo transplante de fígado e mencionando o registro de casos também nos Estados Unidos (FDA/CFSAN, 2001; FDA/CFSAN, 2002).

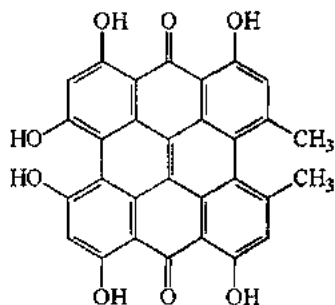
No Brasil, a partir de 2002, medicamentos contendo cava-cava devem apresentar tarja vermelha, isto é, só podem ser dispensados com apresentação de prescrição médica (Brasil, 2002a).

Hipérico – *Hypericum perforatum* L. é uma das plantas de maior tradição de uso na medicina popular européia. Sua utilização remonta ao início da era cristã, o que é refletido pela denominação erva-de-são-joão utilizada em diversos países (*St. John Wort*, *Johanniskraut*) devido à coincidência do período de floração com as festividades daquele santo. O uso preconizado tem variado amplamente ao longo do tempo, desde laxante, diurético, antipirético, cicatrizante, em gastrite, em hemorróides, em insônia e mesmo em algumas formas de câncer. Nas últimas décadas preparações farmacêuticas contendo extrato seco das partes aéreas têm sido preconizadas para o tratamento de depressão suave a moderadamente grave, principalmente na Alemanha, onde a monografia correspondente recebeu avaliação favorável da Comissão encarregada da revisão de produtos fitoterápicos (Blumenthal, 1998); nesse país o consumo de produtos a base de hipérico é significativo, sendo citados dados correspondentes ao uso de 66 milhões de doses diárias para o ano de 1994 (De Smet e Nollen, 1996) e, em 1997, os produtos a base de hipérico abarcavam 25% de todas prescrições de antidepressivos (Müller e Kasper, 1997).

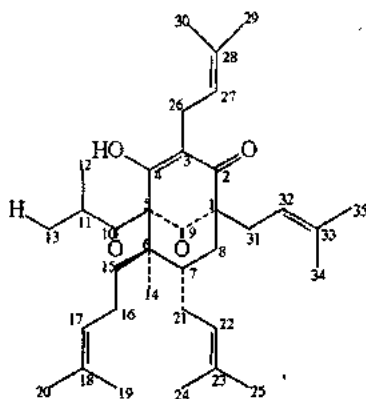
Em ensaios farmacológicos em animais foram obtidos resultados sugestivos de ação antidepressiva, em modelos como comportamento exploratório em ambiente estranho, antagonismo da ação da reserpina e da depressão provocada pela clonidina (Okpny e Weischer, 1987). Essa atividade foi inicialmente correlacionada com a presença da hipericina (18), uma naftodiantrona para a qual havia sido descrita atividade inibidora da MAO (Suzuki et al., 1984), não reproduzida em experimentos posteriores (Bladt e Wagner, 1993); posteriormente foi descrita ação inibidora da recaptação da serotonina (Perovic e Müller, 1995). Não obstante o desconhecimento do mecanismo de ação, na década de 90 foram desenvolvidos mais de 30 ensaios clínicos, geralmente em pacientes com depressão suave a moderadamente grave, envolvendo preparações contendo extrato seco padronizado quanto ao teor de hipericina, de modo geral correspondendo a administração de 500 a 900 mg extrato/dia, com significativas variações quanto ao teor de hipericina, desde 0,4 até 2,7 mg/dia.

Uma meta-análise avaliando um conjunto desses ensaios clínicos, incluindo a partir de critérios como a existência de controle através de grupo placebo ou tratado com outro antidepressivo, indicou atividade significativamente superior a do placebo em distúrbios depressivos suaves até moderadamente severos e baixa incidência de efeitos indesejados, comparativamente aos antidepressivos padrões utilizados como referência em alguns desses ensaios (Linde et al., 1996). Embora esses resultados possam ser considerados como promissores, os autores da meta-análise (Linde et al., 1996), bem como especialistas que a comentam (De Smet e Nollen, 1996), consideram necessários estudos clínicos mais amplos, com delineamento mais rigoroso para a inclusão de maior número de participantes e período mais prolongado de utiliza-

ção, já que aqueles realizados apresentaram duração entre 4 e 8 semanas, com apenas um ensaio clínico por 12 semanas. Além disso, considerando resultados indicadores de atividade com extratos livres de hipericina (Bhattacharya et al., 1998), a padronização em termos dessa substância já não é mais considerada adequada, por não assegurar a relação dose-resposta, indispensável quando do tratamento de distúrbio tão sério em suas consequências como a depressão maior.



hipericina
(18)



hiperforina
(19)

Mais recentemente, uma série de trabalhos publicados em um número especial da revista *Pharmacopsychiatry* (Müller e Chatterjee, 1998) indicou o acilfloroglucinol hiperforina (19) como componente determinante da atividade antidepressiva. A contribuição de outros componentes foi também apontada por Butterweck et al., 1998, que demonstraram que a fração contendo procianidinas, através do aumento da solubilidade, potenciavam a ação da hipericina em preparações aquosas.

Para a hiperforina foi demonstrada ação inibidora da recaptação dos neurotransmissores serotonina, noradrenalina, dopamina e GABA, com similar potência e ausência de ação inibidora da MAO (Müller et al., 1998). Experimentos em modelos animais confirmaram a importância da hiperforina para atividade antidepressiva, já que extratos desprovidos de hipericina, mas enriquecidos com a hiperforina, bem como a própria substância isolada, mostraram atividade significativa (Chatterjee et al., 1998). Ainda, ensaios clínicos controlados indicaram atividade antidepressiva similar ao grupo placebo para o grupo tratado com produto contendo 0,5% de hiperforina, mas significativamente superior ao placebo para o produto contendo 5% dessa substância (Laakmann et al., 1998).

É de se destacar que a hiperforina apresenta problemas de estabilidade, sofrendo maior ou menor decomposição por ação da luz e do ar, de acordo com o processamento utilizado; ainda, a hiperforina está presente apenas em flores (ca. 2%) e frutos (até 5%) (Erdelmeier, 1998), portanto o seu teor nas preparações será variável, de acordo com época de coleta e proporção de material florido na matéria-prima vegetal.

Cabe mencionar o elevado potencial de interações medicamentosas dos produtos a base de hipérico, reconhecido a partir da ampliação uso, o que motivou alertas de agências regulatórias no exterior e, no Brasil, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), chamando a atenção especialmente para as interações com contraceptivos orais, anticonvulsivantes, indinavir, varfarina, digoxina e teofilina (Alertas Federais de Farmacovigilância – Alerta SNVS/Anvisa/Ufarm nº 7, de 15.3.2002). Ainda, a ANVISA, tendo em vista a necessidade de acompanhamento médico no tratamento de distúrbios depressivos, determinou a exigência de comercialização sob prescrição médica para todos produtos a base do hipérico (Resolução Específica nº 357, 28.2.2002) (Brasil, 2002b).

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os fatos apresentados demonstram a complexidade da tarefa de desenvolver, a partir de plantas medicinais, produtos com constância de composição e propriedades terapêuticas reprodutíveis, como se exige dos demais medicamentos. Os exemplos utilizados ilustram ainda que, muito freqüentemente, a atividade de extrativos vegetais não é reproduzida pelas substâncias ativas isoladas, sendo a sua ação determinada por mais de um componente do extrato, que pode eventualmente atuar sobre os mesmos processos bioquímicos, mas pode também contribuir de outras maneiras, modificando a solubilidade, alterando fenômenos de absorção ou influenciando sobre a estabilidade. Muitos outros exemplos de complexidade semelhante podem ser citados, como os casos das drogas ginseng, valeriana, alho e maracujá. Deve-se salientar ainda a situação paradoxal das plantas medicinais brasileiras, consideradas como altamente promissoras, mas das quais tão pouco se conhece.

A transformação de uma planta medicinal em um medicamento é, portanto, uma tarefa que apresenta problemas diferenciados daqueles que caracterizam a busca de protótipos para novos fármacos, embora a investigação e desenvolvimento de fitoterápicos possa conduzir ao reconhecimento de novas substâncias ativas (ver capítulo “Desenvolvimento tecnológico e produção de fitoterápicos”).

As potencialidades de uso das plantas medicinais encontram-se longe de estarem esgotadas. Os novos paradigmas de desenvolvimento social e econômico, baseados nos recursos renováveis, endossam esta afirmação. Novos conhecimentos e novas necessidades certamente encontrarão no reino vege-

tal soluções, através da descoberta e desenvolvimento de novas moléculas com atividade terapêutica, ou com aplicações na tecnologia farmacêutica ou no desenvolvimento de fitoterápicos com maior eficiência de ação.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABELL, S. DRUGDEX Editorial Staff. *Drug evaluation: Kava*. Englewood: Micro-medex, ver. dezembro 1997.
- BERRRY, D.R.; SMITH, J.E.; HARVEY, L. Non-antibiotic drugs from fungal and other microbial sources In: HARVEY, A.L. (ed.). *Drugs from natural products*. Chichester: Horwood, 1993. p. 18- 34.
- BEUTNER, K. R.; von KROGH, G. Current status of podophyllotoxin for the treatment of genital warts. *Semin. Derm.*, v. 9, p. 148-151, 1990.
- BHATTACHARYA, S.K.; CHAKRABARTI, A.; CHATTERJEE, S.S. Activity profile of two hyperforin-containing hypericum extracts in behavioral models. *Pharmacopsychiat.*, v. 31 (Suppl.), p. 22-29, 1998.
- BLADT, S.; WAGNER, H. MAO-Hemmung durch Fraktionen und Inhaltsstoffe von *Hypericum*-Extrakt. *Nervenheilkunde*, v. 12, p. 349, 1993.
- BLASKÓ, G.; CORDELL, G. A. Isolation, Structure Elucidation, and Biosynthesis of the Bisindole Alkaloids of *Catharanthus*. In: BROSSI, A. (ed.). *The alkaloids- chemistry and pharmacology*. San Diego: Academic, 1990. v. 37, p. 01-76.
- BLECHERT, S.; GUÉNARD, D. *Taxus* Alkaloids. In: BROSSI, A. (ed.). *The alkaloids- chemistry and pharmacology*. San Diego: Academic, 1990. v. 39, p. 195-238.
- BLUMENTHAL, M. (ed.) *The complete german Commission E monographs*. Austin: American Botanical Council, 1998.
- BRAQUET, P. The ginkgolides: potent platelet-activating factor antagonists isolated from *Ginkgo biloba* L.: Chemistry, pharmacology and clinical applications. *Drugs of the Future*, v. 12, p. 643-699, 1987.
- BRAQUET, P.; OSFORD, D. Ethnopharmacology and the development of natural PAF antagonists as therapeutic agents. *J. Ethnopharmacol.*, v.32, p. 135-139, 1991.
- BRASIL, Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução Específica - RE nº 356, de 26.2.2002. *Diário Oficial da União*, 04 mar. 2002a.
- BRASIL, Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução Específica - RE nº 357, de 26.2.2002. *Diário Oficial da União*, 04 mar. 2002b.
- BUTTERWECK, V.; PETEREIT, F.; WINTERHOFF, H.; NAHRSTEDT, A. Solubilized hypericin and pseudohypericin from *Hypericum perforatum* exert antidepressant activity in the forced swimming test. *Planta Med.*, v. 64, p. 291, 1998.
- CHATTERJEE, S.S. Pharmakologische Eigenschaften verschiedener *Ginkgo*-Extrakte. *Ärzt. Forsch.*, v. 37, p. 4, 1990.
- CHATTERJEE, S.S.; NÖLDER, M.; KOCH, E.; ERDELMEIER, C. A. Antidepressant activity of *Hypericum perforatum* and hyperforin: the neglected possibility. *Pharmacopsychiat.*, v. 31 (Suppl.), p.7-15, 1998.
- CORREIA, A. G. Taxol: da descoberta ao uso terapêutico. *Química Nova*, v. 18, p. 460-467, 1995.
- CRAGG, G.M.; NEWMAN, D.J.; SNADER, K.M. Natural products in drug discovery and development. *J. Nat. Prod.*, v. 60, p.52-60, 1997.
- DAVIES L.P. et al. Kava pyrones and resin: studies on GABA(A), GABA(B) and benzo-

- diazepine binding sites in rodent brain. *Pharmacol. Toxicol.*, v. 71, p. 120-126, 1992.
- DE SMET, P. A. G.; NOLLEN, W. A. St. John's wort as an antidepressant. *Br. Med. J.*, v. 313, p. 241-242, 1996.
- DENIS, J.-N.; GREENE, A. E.; GUÉNARD, D.; GUÉRITTE-VOEGELEIN, F.; MANGATAL, L.; POTIER, P. A highly efficient, practical approach to natural taxol. *J. Am. Chem. Soc.*, v. 110, p. 5917-5919, 1988.
- DINGERMAN, T. Phytopharmaka im Alter: Crataegus, Ginkgo, Hypericum und Kava-Kava. *Pharmaz. Ztg.*, v. 140, n. 23, p. 2017-2024, 1995.
- DUFTON, M.J. From toxins to drugs – venom proteins as a guide to the future design of protein drugs. In: HARVEY, A.L. (ed.). *Drugs from natural products*. Chichester: Horwood, 1993. p. 48- 64.
- ERDELMEIER, C.A. Hyperforin, possible the major non-nitrogenous secondary metabolite of *Hypericum perforatum* L. *Pharmacopsychiat.*, v. 31 (Supp. I), p. 2-6, 1998.
- ESCHER, M.; DESMEULES, J.; GIOSTRA, E.; MENTHA, G. hepatitis associated with kava, a herbal remedy for anxiety. *Brit. Med. J.* v. 322, p. 139-141, 2001.
- FDA-CFSAN, 2001. Letter to Health Care Professionals about FDA Seeking Information on Liver Injury and Kava Products, December 19, 2001. Disponível em <www.cfsan.fda.gov/~dms/ds-ltr27.html>. Acesso em 04 ago. 2002.
- FDA-CFSAN, 2002. kava-Containing dietary supplements may be associated with severe liver injury. Consumer Advisory, march 25, 2002. Disponível em <www.cfsan.fda.gov/~dms/addskava.html>. Acesso em 04 ago. 2002.
- FEISTEL, B. *Untersuchungen zur analytischen Standardisierung von Ginkgo biloba-Extrakten und deren galenischer Zubereitungen*. Halle: Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg/Alemanha, 1994. (Tese doutorado em Ciências Naturais.)
- FENICAL, W. New pharmaceuticals from marine organisms. *TIBTECH*, v.15, p.339-341, 1997.
- FOSTER, S. (ed.). *Ginkgo, Ginkgo biloba*. Austin: American Botanical Council, 1996. Botanical Series n° 304.
- GESELLSCHAFT für Phytotherapie (Hrsg.) *Beurteilung pflanzlicher Kombinations-arzneimittel*. Stuttgart: Deutscher Apotheker, 1988.
- GIOVANELLA, B. C.; WALL, M. E.; WANI, M. C.; NICHOLAS, A. W.; LIU, L. F.; SILBER, R.; POTMESIL, M. DNA Topoisomerase I-Targeted Chemotherapy of Colon Cancer in Xenografts. *Science*, v. 246, p. 1046, 1989.
- GUÉNARD, D.; GUÉRITTE-VOEGELEIN, F.; POTIER, P. Taxol and Taxotere: Discovery, Chemistry and Structure-Activity Relationships. *Accounts Chem. Res.*, v. 26, p. 160-167, 1993.
- HÄNSEL, R. Analytische Differenzierung verschiedener Ginkgo Extrakte. Bedeutung des Herstellungsverfahrens für die Extraktzusammensetzung. *Ärztl. Forsch.*, v. 37, p. 1-3, 1990.
- HAMBURGER, M.; HOSTETTMANN, K. Bioactivity in Plants: the Link Between Phytochemistry and Medicine. *Phytochemistry*, v.12, p. 3864-3874, 1991.
- HARTWELL, J. L.; SCHRECKER, A. W. Components of Podophyllin. V. The Constitution of Podophyllotoxin. *J. Am. Chem. Soc.*, v. 73, p. 2909-2916, 1951.
- HEZARI, M.; CROTEAU, R. Taxol: biosynthesis: an update. *Planta Medica*, v. 63, p. 291-295, 1997.
- HOEPFNER, E.-M.; RENG, A.; SCHMIDT, P. C. (ed.). *Fiedler Encyclopedia of Ex-cipients*. 5.ed. Aulendorf: Cantor, 2002. 2v.

- HOLMES, F. A.; WALTERS, R. S.; THERIAULT, R. L.; FORMAN, A. D.; NEWTON, L. K.; RABER, M. N.; BUZDAR, A. U.; FRYE, D. K.; HORTOBAGYI, G. N. Phase II trial of taxol, an active drug in the treatment of metastatic breast cancer. *J. Nat. Cancer Inst.*, v. 83, p. 1797-1805, 1991.
- HOLTON, R. A.; KIM, H.-B.; SOMOZA, C.; LIANG, F.; BIEDIGER, R. J.; BOATMAN, P. D.; SHINDO, M.; SMITH, C. C.; KIM, S.; NADIZADEH, H.; SUZUKI, Y.; TAO, C.; VU, P.; TANG, S.; ZHANG, P.; MURTHI, K. K.; GENTILE, L. N.; LIU, J. H. First Total Synthesis of Taxol. 2. Completion of the C and D Rings. *J. Am. Chem. Soc.*, v. 116, p. 1599-1600, 1994.
- HOOK, D. J.; PACK, E. J.; YACOBUCCHI, J. J.; GUSS, J. Approaches to automating the dereplication of bioactive natural products – the key step in high throughput screening of bioactive materials from natural sources. *J. Biomol. Screening*, v. 2, p. 145-152, 1997.
- HOPFENMÜLLER, W. Nachweis der therapeutischen Wirksamkeit eines *Ginkgo biloba* Spezielextraktes. *Arzneim.-Forsch.*, v. 44, p. 1005-1013, 1994.
- HOSTETTMANN, K.; WOLFENDER, J.-L.; RODRIGUES, S. Rapid detection and subsequent isolation of bioactive constituents of crude plant extracts. *Planta Medica*, v. 63, p. 3-10, 1997.
- HUSSON, M.-C.; BECKER, A. (coord.). *Médicaments anticancéreux- de la préparation à l'administration*. Paris: EMI, 1995.
- JHA, S.; SANYAL, D.; GHOSH, B.; JHA, T. B. Improved taxol yield in cell suspension culture of *Taxus wallichiana* (Himalayan Yew). *Planta Medica*, v. 64, p. 270-272, 1998.
- JUSSOFIE, A.; SCHMIZ, A.; HIEMKE, C. Kavapyrone enriched extract from *Piper methysticum* as modulator of the GABA binding site in different regions of rat brain. *Psychopharmacol.*, v. 1116, p. 469-474, 1994.
- KINGSTON, D. G. I. Natural products as pharmaceuticals and sources for lead structures. In: WERMUTH, C. (ed.). *The practice of medicinal chemistry*. San Diego: Academic, 1996. p. 101-114.
- KINZLER et al. Wirksamkeit eines Kava-Spezialextraktes bei Patienten mit Angst-Spannungs- und Erregungszuständen nicht-psychotischer Genese. *Arneim.-Forsch./Drug Res.*, v. 41, p. 584, 1991.
- KLEIJNEN, J. *Ginkgo biloba* in intermittent claudication. (Cochrane Review) In: *The Cochrane Library*. Oxford: Update Software, 1998. n. 2. Updated quarterly.
- KLEIJNEN, J.; KNIPSCHILD, P. *Ginkgo biloba* for cerebral insufficiency. *Br. J. Clin. Pharmacol.*, v. 34, p. 352-358, 1992.
- KUTNEY, J. P. Biosynthesis and synthesis of indole and bisindole alkaloids in plant cell cultures: a personal overview. *Natural Product Report*, p. 85-103, 1990.
- LAACKMANN, G.; SCHÜLE, C.; BAGHAI, T.; KIESER, M.; St. John's wort in mild to moderate depression: the relevance of hyperforin for the clinical efficacy. *Pharmacopsychiat.*, v. 31 (Supp. 1), p. 54-59, 1998.
- LEHMAN, E.; KINZLER, E.; FRIEDEMANN, J. Efficacy of a special Kava extract. (*Piper methysticum*) in patients with states of anxiety, tension and excitedness of non-mental origin - A double-blind placebo-controlled study of four weeks treatment. *Phytomedicine*, v. 3, p. 113-119, 1996.
- LIMA NETO, S. A.; PETROVICK, P. R. A celulose na farmácia. *Cad. Far.*, v. 13, n. 1, p. 59-64, 1997.
- LINDE, K.; RAMIREZ, G.; MULROW, C. D.; PAULS, A.; WEIDENHAMMER, W.; MELCHART, D. St. John's wort for depression – an overview and meta-analysis

- of randomised clinical trials. *Br. Med. J.*, v. 313, p. 253-258, 1996.
- LOUNASMAA, M.; NEMES, A. The synthesis of bis-indole alkaloids and their derivatives. *Tetrahedron*, v. 38, p. 223-243, 1982.
- MANGENEY, P.; ANDRIAMIALISOA, R. Z.; LALLEMAND, J.-Y.; LANGLOIS, N.; LANGLOIS, Y.; POTIER, P. 5'-nor-anhydrovinblastine, prototype of a new class of vinblastine derivatives. *Tetrahedron*, v. 35, p. 2175-2179, 1979.
- MARDEROSIAN, A. D.; LIBERTI, L. E. *Natural product medicine*. Philadelphia: George F. Stickley, 1988.
- MCCORMACK, J. J. Pharmacology of antitumor bisindole alkaloids from *Catharanthus*. In: BROSSI, A. (ed.). *The alkaloids*. San Diego: Academic, 1990. v. 37, p. 205-228.
- McLAUGHLIN, J.L.; CHANG, C.-J.; SMITH, D.L. Simple bench-top bioassays (brine shrimp and potato discs) for the discovery of plant antitumor compounds. In: KINGHORN, A.D.; BALANDRIN M.F. (ed.). *Human medicinal agents from plants*. San Francisco: American Chemical Society, 1993. v. 9, p. 112-137. ACS Symposium Series 534.
- MÜLLER, W.E.; KASPER, S. Editorial. *Pharmacopsychiat.*, v. 30 (Suppl.), p. 71, 1997.
- MÜLLER, W.E.; CHATTERJEE, S.S. Hyperforin and the antidepressant activity of St. John's Wort. *Pharmacopsychiat.*, v. 31 (Suppl. I), p. 1-60, 1998.
- MÜLLER, W.E.; SINGER, A.; WONNENMANN, M.; HAFNER, U.; ROLLI, M.; SCHÄFER, C. Hyperforin represents the neurotransmitter reuptake inhibiting constituent of hypericum extract. *Pharmacopsychiat.*, v. 31 (Suppl.), p. 16-21, 1998.
- NADKARNI, M. V.; HARTWELL, J. L.; MAURY, P. B.; LEITER, J. Components of podophyllin. XI. Isolation of two new compounds from *Podophyllum emodi* Wall. *J. Am. Chem. Soc.*, v. 75, p. 1308-1312, 1953.
- NICOLAOU, K. C.; UENO, H.; LIU, J.-J.; NANTERMET, P. G.; YANG, Z.; RE-NAUD, J.; PAULVANNAN, K.; CHADHA, R. Total synthesis of taxol. 4. The final stages and completion of the synthesis. *J. Am. Chem. Soc.*, v. 117, p. 653-659, 1995.
- OKPANYI, V. S. N.; WEISCHER, M. L. Tierexperimentelle Untersuchungen zur psychotropen Wirksamkeit eines *Hypericum*-Extraktes. *Arzneim.-Forsch./Drug Res.*, v. 37, p. 10-13, 1987.
- O'NEIL, M.J.; LEWIS, J. A. The renaissance of plant research in the pharmaceutical industry. In: KINGHORN, A.D.; BALLANDRIN, M.F. (ed.). *Human medicinal agents from plants*. Washington: American Chemical Society, 1993. p. 48-55.
- PAZDUR, R.; KUDELKA, A. P.; KAVANAGH, J. J.; COHEN, P. P.; RABER, M. N. The taxoids: paclitaxel (taxol) and docetaxel (taxotere). *Cancer Treatment Reviews*, v. 19, p. 351-386, 1993.
- PEARCE, H. L. Medicinal chemistry of bisindole alkaloids from *Catharanthus*. In: BROSSI, A. (ed.). *The alkaloids-chemistry and pharmacology*. San Diego: Academic, 1990. v. 37, p. 145-204.
- PEROVIC, S.; MÜLLER, W. E. G. Pharmacological profile of hypericum extract. Effect on serotonin uptake by postsynaptic receptors. *Arzneim.-Forsch./Drug Res.*, v. 45, p. 1145-1148, 1995.
- PHARMACOPEIA geral para o Reino, e domínios de Portugal. Lisboa: Régia Officina Typografica, 1894. v. 1. Elementos de Pharmacia.
- PITTLER, M.H.; ERNST, E. Efficacy of kava Extract for Treating Anxiety: Systematic Review and meta-Analysis. *J. Clin. Psychopharm.*, v.20, p. 84-89, 2000.

- PRATT, W. B.; RUDDON, R. W.; ENSMINGER, W. D.; MAYBAUM, J. *The anti-cancer drugs*. 2.ed. New York: Oxford University, 1994.
- REPORT of the consultation on model monographs on widely used medicinal plants. Munich: World Health Organization, 1996. WHO/TRM/96.3.
- ROCHA E SILVA, M. *Fundamentos da farmacologia e suas aplicações à terapêutica*. 3. ed. rev., São Paulo: EDART; Brasília: INL, 1973. v. 1.
- ROBBERS, J. E.; SPEEDIE, M. K.; TYLER, V. E. *Pharmacognosy and pharmacobio-technology*. Baltimore: Williams e Wilkins, 1996.
- ROWINSKY, E. K.; DONEHOWER, R. C. The clinical pharmacology and use of antimicrotubule agents in cancer chemotherapeutics. *Pharmac. Ther.*, v. 52, p. 35-84, 1991.
- RUSSMANN, S.; LAUTERBURG, B. H.; HELBLING, A. Kava Hepatotoxicity. *Ann. Intern. Med.* v. 135, P. 68-69, 2001.
- SACKETT, D. L. Podophyllotoxin, steganacin and combrestatin: natural products that bind at the colchicine site of tubulin. *Pharmac. Ther.*, v. 59, p. 163-228, 1993.
- SARETT, L. H. The impact of natural product research on drug discovery. *Progress in Drug Research*, v. 23, p. 51-62, 1979.
- SCHIFF, P. B.; FANT, J.; HORWITZ, S. B. Promotion of microtubule assembly *in vitro* by taxol. *Nature*, v. 277, p. 665, 1979.
- SCHNEIDER, B. *Ginkgo biloba* Extrakt bei peripheren arteriellen Verschlusskrankheiten. *Arzneim.-Forsch.*, v. 42, p. 428-436, 1992.
- SHU, Y.-Z. Recent natural products based drug development: a pharmaceutical industry perspective. *J. Nat. Prod.*, v. 61, p. 1053-1071, 1998.
- SQUIRES, R. *Ginkgo biloba*. Sidney: Australian Traditional Medicine Society, 1995.
- STÄHELIN, H. F.; VON WARTBURG, A. The chemical and biological route from podophyllotoxin glucoside to etoposide: ninth cain memorial award lecture. *Cancer Res.*, v. 51, p. 5-15, 1991.
- STICHER, O. Quality of Ginkgo preparations. *Planta Medica*, v. 59, p. 2-11, 1993.
- STIERLE, A.; STROBEL, G.; STIERLE, D. Taxol and taxane production by *Taxomyces andreanae*, an endophytic fungus of pacific yew. *Science* v. 260, p. 214-216, 1993.
- SUZUKI, O.; KATSUMATA, Y.; OYA, M.; BLADT, S.; WAGNER, H. Inhibition of monoamine oxidase by hypericin. *Planta medica*, v. 50, p. 272, 1984.
- TEUSCHER, E.; LINDEQUIST, U. *Biogene Gifte*. Stuttgart: Fischer, 1994.
- VAN DONGEN, M. C. J. M.; OKEN, B. *Ginkgo biloba* in patients with dementia and cognitive impairment. (Cochrane review). In: *The cochrane library*. Oxford: Update Software, 1998. n. 2. Updated quarterly.
- WALL, M. E.; WANI, M. C.; COOK, C. E.; PALMER, K. H.; McPHAIL, A. T.; SIM, G. A. Plant antitumor agents. I. The isolation and structure of camptothecin, a novel alkaloidal and tumor inhibitor from *Camptotheca acuminata*. *J. Am. Chem. Soc.*, v. 88, p. 3888-3890, 1966.
- WANI, M. C.; TAYLOR, H. L.; WALL, M. E.; COGGON, P.; McPHAIL, A. T. Plant antitumor agents. VI. The isolation and structure of taxol, a novel antileukemic and antitumor agent from *Taxus brevifolia*. *J. Am. Chem. Soc.*, v. 93, p. 2325-2327, 1971.
- WISEMAN, L. R.; MARKHAM, A. Irinotecan - a review of its pharmacological properties and clinical efficacy in the management of advanced colorectal cancer. *Drugs*, v. 52, p. 606-623, 1996.

- WITKOP, B. Natural products, receptors and ligands. In: BEAL, J.L.; REINHARD, E. *Natural Products as Medicinal Agents*. Stuttgart: Hypocrates, 1981. p. 151-173.

8. SUGESTÕES PARA LEITURA

- CORRÊA, A. G. Taxol: da descoberta ao uso terapêutico. *Química Nova*, v. 18, p. 460-467, 1995.
- CRAGG, G.M.; NEWMAN, D.J.; SNADER, K.M. Natural products in drug discovery and development. *J. Nat. Prod.*, v. 60, p.52-60, 1997.
- HAMBURGER, M.; HOSTETTMANN, K. Bioactivity in plants: the link between phytochemistry and medicine. *Phytochemistry*, v.12, p. 3864-3874, 1991.
- HOSTETTMANN, K.; WOLFENDER, J.-L.; RODRIGUES, S. Rapid detection and subsequent isolation of bioactive constituents of crude plant extracts. *Planta Medica*, v. 63, p. 3-10, 1997.
- KINGSTON, D.G.I. Natural products as pharmaceuticals and sources for lead structures. In: WERMUTH, C. (ed.). *The practice of medicinal chemistry*. San Diego: Academic, 1996. p. 101-114.
- SHU, Y.-Z. Recent natural products based drug development: a pharmaceutical industry perspective. *J. Nat. Prod.*, v. 61, p. 1053-1071, 1998.

PARTE II

Grupos de metabólitos vegetais

**METABOLISMO BÁSICO
E ORIGEM
DOS METABÓLITOS
SECUNDÁRIOS**

AUTOR

Rosana Isabel dos Santos

1. INTRODUÇÃO

O objetivo deste capítulo é apresentar uma visão geral sobre a origem biossintética das principais classes de substâncias vegetais, de importância em Farmácia, sem a preocupação com o detalhamento bioquímico das reações envolvidas. Espera-se que o leitor possa facilmente situar a produção de uma determinada substância no contexto geral do metabolismo de um organismo produtor. Para isso, a origem de tais classes de substâncias é apresentada na seqüência em que as principais rotas metabólicas são comentadas.

1.1. Metabolismo

Dá-se o nome de metabolismo ao conjunto de reações químicas que continuamente estão ocorrendo em cada célula. A presença de enzimas específicas garante uma certa direção a essas reações, estabelecendo o que se denomina de rotas metabólicas. Os compostos químicos formados, degradados – ou simplesmente transformados – são chamados de metabólitos e as reações enzimáticas envolvidas, respectivamente, são designadas como anabólicas, catabólicas ou de biotransformação.

Essas reações visam, primariamente, ao aproveitamento de nutrientes para satisfazer as exigências fundamentais da célula: energia (derivada basicamente de ATP), poder redutor (NADPH) e biossíntese das substâncias essenciais à sua sobrevivência (macromoléculas celulares).

SUMÁRIO DO CAPÍTULO

1. Introdução
2. Organização e fisiologia celular vegetal
3. Metabolismo vegetal secundário
4. Referências bibliográficas
5. Sugestões para leitura

De acordo com a teoria evolucionista, todos os seres vivos derivam de um precursor comum, do qual conservam algumas características. Isso explica, por exemplo, porque as principais macromoléculas (carboidratos, lipídeos, proteínas e ácidos nucleicos), que vem a ser os constituintes celulares, são essencialmente as mesmas, quer num organismo vegetal, quer num animal. Da mesma forma, os processos metabólicos relacionados a essas macromoléculas apresentam um elevado grau de similaridade entre os organismos, especialmente numa unidade sistemática, o que permite fazer generalizações (Wink, 1990). Por serem considerados processos essenciais à vida e comuns aos seres vivos, têm sido definidos como integrantes do *metabolismo primário*, constituindo, tradicionalmente, o conteúdo das disciplinas de bioquímica. Algumas vezes, pode ser designado por metabolismo intermediário, que, de acordo com Watson (1965), é o termo que descreve as várias reações químicas envolvidas na transformação de moléculas de nutrientes nas unidades constitutivas essenciais da célula.

Vegetais, microorganismos e, em menor escala, animais, entretanto, apresentam todo um arsenal metabólico (enzimas, coenzimas e organelas) capaz de produzir, transformar e acumular inúmeras outras substâncias não necessariamente relacionadas de forma direta à manutenção da vida do organismo produtor. Nesse grupo, encontram-se substâncias cuja produção e acumulação estão restritas a um número limitado de organismos, com bioquímica e metabolismo específicos e únicos, caracterizando-se como elementos de diferenciação e especialização (Wink, 1990). A todo este conjunto metabólico costuma-se definir como *metabolismo secundário*, cujos produtos, embora não necessariamente essenciais para o organismo produtor, garantem vantagens para sua sobrevivência e para a perpetuação de sua espécie, em seu ecossistema.

Uma definição ligeiramente diferente é apresentada por Gottlieb et al. (1996), que apenas diferenciam os metabólitos primários como sendo os fornecedores de matéria-prima e de energia para a formação dos metabólitos secundários, designados, por estes autores, como *especiais*.

1.2. Funções no organismo produtor e importância dos metabólitos secundários

Durante muito tempo, os metabólitos secundários foram considerados como produtos de excreção do vegetal, com estruturas químicas e, algumas vezes, propriedades biológicas interessantes. Atualmente, entretanto, sabe-se que muitas destas substâncias estão diretamente envolvidas nos mecanismos que permitem a adequação do produtor a seu meio. De fato, já foram reconhecidas como funções de várias substâncias pertencentes a essa classe de metabólitos, por exemplo, a defesa contra herbívoros e microorganismos, a proteção contra os raios UV, a atração de polinizadores ou animais dispersores de sementes (Wink, 1990), bem como sua participação em alelopatias (Harborne, 1988).

Outra característica dos vegetais em relação ao metabolismo secundário é a elevada capacidade biossintética, tanto em relação ao número de substâncias produzidas quanto à sua diversidade numa mesma espécie. De acordo com Harborne (1988):

A riqueza de metabólitos secundários em plantas é, pelo menos parcialmente, explicável no simples fato de que os vegetais estão enraizados no solo e não podem se deslocar; eles não podem responder ao meio ambiente pelas vias possíveis aos animais.

Apenas para exemplificar essa característica, pode-se citar o caso de *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. (vinca), da família Apocynaceae, que, apenas no que diz respeito aos alcalóides, é capaz de produzir e acumular mais de 90 compostos diferentes (Robbers et al., 1996).

O aparecimento de metabólitos biologicamente ativos na natureza, segundo Rhodes (1994), é determinado por necessidades ecológicas e possibilidades biossintéticas, sendo que a co-evolução de plantas, insetos, microorganismos e mamíferos conduz à síntese de metabólitos secundários com funções de defesa ou atração, principalmente. Assim, os metabólitos secundários, por serem fatores de interação entre organismos, freqüentemente, apresentam atividades biológicas interessantes. Muitos são de importância comercial tanto na área farmacêutica quanto nas áreas alimentar, agrônômica e da perfumaria, entre outras. Do ponto de vista farmacêutico, o maior interesse deriva principalmente do grande número de substâncias farmacologicamente importantes.

Embora muitos metabólitos primários também sejam de interesse em algumas das áreas acima citadas, o elevado número e a grande diversidade dos metabólitos secundários vegetais têm despertado o interesse de pesquisadores de vários campos da ciência que vêem neles uma fonte particularmente promissora de novas moléculas potencialmente úteis ao homem.

1.3. Razões para estudar a biogênese dos metabólitos secundários

Compete à Farmacognosia o estudo dos produtos naturais, entendidos como aqueles compostos orgânicos de origem natural, comuns a um número reduzido de organismos relacionados. Neste grupo, encontram-se predominantemente os metabólitos secundários.

Em função da importância de vários metabólitos secundários, particularmente na área farmacêutica, o estudo da sua biogênese e regulação tem crescido de maneira notável em anos recentes, tendo se tornado um dos campos da Farmacognosia de grande relevância. Somente através desse conhecimento é possível ao homem interferir racionalmente sobre o organismo produtor, de forma a direcionar sua produção. É por essa razão e porque a produção de

fármacos (incluindo-se aqui os derivados de drogas vegetais) diz respeito ao farmacêutico, que o estudante de Farmácia deve conhecer a biossíntese dos metabólitos vegetais. Ou, nas palavras de Robbers et al. (1996), *tanto quanto o entendimento da síntese química do fenobarbital ou outro fármaco sintético é de fundamental importância para o estudante de Química Farmacêutica, o conhecimento da biossíntese dos fármacos de origem natural é de igual importância ao aluno de Farmacognosia.*

2. ORGANIZAÇÃO E FISILOGIA CELULAR VEGETAL

O estudo da biossíntese dos metabólitos secundários pressupõe o conhecimento do metabolismo primário, cujo detalhamento não é objetivo desse capítulo encontrando-se bem discutido em livros clássicos de bioquímica (ver, ao final deste capítulo, sugestões para leitura).

A organização celular também apresenta muitas semelhanças entre os organismos. Para facilitar a compreensão sobre a origem dos metabólitos secundários vegetais, optou-se por apresentar resumidamente tópicos considerados importantes, uma vez que a produção destes parece estar intimamente relacionada à fisiologia vegetal, organizada, por sua vez, a partir da estrutura celular do organismo produtor. As informações constantes nos itens 2.1 a 2.4 foram extraídas principalmente das obras listadas nas sugestões para leitura.

2.1. A célula

Uma célula pode ser simplificada como um compartimento delimitado por uma membrana lipoprotéica, dentro do qual encontra-se uma solução aquosa concentrada de algumas substâncias essenciais à vida, sendo capaz de crescer e auto-replicar-se. Assim, a célula pode ser definida como a menor unidade estrutural e funcional dos organismos, sendo que, em todos eles, a sua constituição molecular é semelhante. Entretanto, o grau de organização interna das células diferencia dois grandes grupos de organismos: os procariontes (bactérias cianofíceas e micoplasmas, que são bactérias até 1.000 vezes menores do que as demais) e os eucariontes (protistas, fungos, vegetais e animais), muito mais complexos e com um grau de especialização muito maior do que os primeiros.

2.2. As macromoléculas celulares

De uma maneira geral, pode-se dizer que todas as células contêm as mesmas moléculas orgânicas: os açúcares, os ácidos graxos, os aminoácidos e os nucleotídeos. Essas moléculas pequenas é que originarão as principais macromoléculas da célula, classificadas em quatro grupos: os carboidratos, os lipídeos, as proteínas e os ácidos nucleicos, respectivamente, cujas estruturas complexas e próprias

as lhes conferem propriedades únicas que lhes permitem participar das mais distintas funções da célula. São responsáveis pela construção dos componentes celulares, catálise das transformações químicas, produção de movimento e, o mais importante de tudo, pela hereditariedade.

2.3. A organização celular

O que individualiza cada célula é a sua membrana. A membrana celular tem a função óbvia de impedir o derramamento do conteúdo celular ao exterior, ao mesmo tempo em que protege este do seu entorno, permitindo, porém, trocas de calor, oxigênio, nutrientes, substâncias de excreção e informação com o ambiente. Toda membrana celular é constituída por uma dupla camada de fosfolipídeos e proteínas. As moléculas de fosfolipídeos (de caráter anfótero) estão dispostas cauda-cauda, de forma que, nas superfícies da membrana, estão as terminações hidrofílicas (polares) e no interior as hidrofóbicas (apolares). Essa característica hidrofóbica é que impede a mistura entre os líquidos aquosos (e das substâncias neles dissolvidas) do interior e exterior da célula e o extravasamento do conteúdo celular, garantindo, assim, sua proteção química e mecânica. A membrana, entretanto, permite a difusão de moléculas pequenas e não carregadas eletricamente, como gases, água, amônia, glicerol e ureia. Já o transporte de substâncias hidrofílicas e compostos eletricamente carregados é obtido graças à presença de moléculas de proteínas (hidrofílicas), que podem tanto participar na formação de poros quanto funcionar como carreadores (proteínas de transporte). Algumas proteínas da membrana também podem atuar como receptores ou transmissores de sinais e outras como catalizadores de reações (enzimas). A membrana ainda permite o contato com outras células em situações, por exemplo, de fusão celular e formação de tecidos. Algumas membranas também contêm carboidratos ligados aos lipídeos e/ou às proteínas.

No interior das células encontram-se macromoléculas (ribossomas, proteínas, ADN, ARN e carboidratos), moléculas orgânicas pequenas (metabólitos intermediários que dão origem às macromoléculas e coenzimas) e íons inorgânicos, além de água. Nos procariontes, o conteúdo citoplasmático não se encontra organizado em organelas e as macromoléculas estão muito próximas umas das outras, separadas apenas por algumas moléculas de água, na qual estão dissolvidas as moléculas orgânicas menores e os íons. Pode-se dizer que todas as reações ocorrem em um mesmo compartimento. As células eucarióticas, entretanto, apresentam organelas altamente especializadas, compartimentalizando as reações. Por definição, e diferentemente das procariontes, as células eucarióticas possuem um núcleo (*caryon* em grego) envolto por uma membrana, o qual contém a maior parte do ADN da célula. O núcleo é o compartimento mais importante para o estoque, a replicação e a expressão da

informação genética, sendo o local também da transcrição do ADN em ARN. Outra função bastante especial do núcleo é a biossíntese de NAD⁺ (dinucleotídeo adenina-nicotinamida). Além do núcleo, as outras organelas presentes são as mitocôndrias, o retículo endoplasmático, o aparelho de Golgi, os lisossomas, os peroxissomas, os endossomas e exossomas.

As mitocôndrias são as *casas de força* das células, já que, através de reações oxidativas, convertem nutrientes em moléculas de trifosfato de adenosina (ATP), uma forma química de estocar energia. A síntese de ATP providencia quase todo o estoque de energia imediatamente acessível do corpo e a quebra de ATP, por várias enzimas, libera energia para utilização nas reações celulares. É nas mitocôndrias que ocorre a conversão do piruvato em acetilCoA, o ciclo do ácido cítrico, a cadeia respiratória acoplada à síntese de ATP, a degradação dos ácidos graxos por beta-oxidação, e partes do ciclo da uréia. As mitocôndrias também têm ribossomas e podem sintetizar certas proteínas.

O retículo endoplasmático (RE) consiste num sistema fechado de vesículas achatadas que se conectam formando uma rede de canais. O RE pode conter ribossomas na sua superfície, sendo, então, chamado de RE rugoso. É ali que as proteínas destinadas às membranas, aos lisossomas e as que serão liberadas da célula são sintetizadas. Outras proteínas são produzidas pelos ribossomas livres no citoplasma. O RE sem ribossomas é chamado de liso e está envolvido na síntese de lipídeos.

O aparelho de Golgi também é uma rede complexa de espaços delimitados por membranas, formando pilhas de vesículas achatadas que podem ser liberadas. Sua principal função está relacionada com a modificação e a classificação de proteínas para secretá-las ou transportá-las às outras organelas.

Os lisossomas são vesículas que contêm enzimas que degradam componentes celulares indesejados e estão envolvidos na degradação de substâncias obtidas pela célula por fagocitose ou pinocitose.

Os peroxissomas contêm enzimas que utilizam oxigênio como agente de oxidação e produzem peróxido de hidrogênio, o qual, por sua vez, pode ser empregado como oxidante ou degradado por catalases também presentes nos peroxissomas. Enzimas ali existentes também podem degradar parcialmente ácidos graxos de cadeia longa.

Os endossomas e os exossomas são vesículas envolvidas na troca de materiais entre a célula e seu entorno.

As células vegetais ainda contêm cloroplastos, que são as organelas em que ocorre a fotossíntese, e vacúolos, os quais têm uma função estrutural e de estocagem, além da parede celular.

A célula eucariótica também contém um citoesqueleto para manter a estrutura e controlar seus movimentos. O citoesqueleto dá forma à célula, além de possibilitar o movimento, a organização e o transporte de suas organelas

de uma parte à outra da célula. O citoesqueleto está composto de uma rede de filamentos protéicos, principalmente actina e microtúbulos.

2.4. Fotossíntese

O modo pelo qual os organismos satisfazem as necessidades fundamentais da célula distingue-os em heterotróficos e autotróficos. Os organismos heterotróficos (por exemplo, os animais) são dependentes de uma fonte constante de compostos orgânicos na sua dieta, os quais serão degradados em compostos mais simples que, por sua vez, servirão de matéria-prima para as reações catabólicas (produção de energia) ou anabólicas (síntese de substâncias mais complexas). Os vegetais e alguns microorganismos, entretanto, incluem-se no grupo dos organismos autotróficos, ou seja, capazes de sintetizar compostos orgânicos (açúcares) a partir de precursores inorgânicos (CO_2 e água), utilizando a energia solar, no processo conhecido como fotossíntese. Portanto, as exigências fundamentais podem ser satisfeitas nos vegetais através do metabolismo dos açúcares. O oxigênio atmosférico, também essencial à vida dos organismos superiores, é liberado no processo fotossintético, o qual pode variar ligeiramente, conforme o organismo que o realiza. A seguir, encontra-se uma descrição resumida do processo que ocorre em vegetais superiores.

A etapa fundamental na fotossíntese é a absorção da luz pela clorofila, um pigmento magnésio-porfirínico (tetrapirrólico) presente nos cloroplastos (organelas presentes nas células dos vegetais superiores). Uma molécula de clorofila (fotossistema I) pode absorver um *quantum* de luz capaz de excitar um elétron, tornando a molécula *ativada*. No que se convencionou chamar de fotossistema II (complexos de proteínas contendo múltiplas moléculas de clorofila e outros pigmentos), o elétron excitado é transferido a uma feofitina vizinha (molécula de clorofila sem Mg^{2+}) e desta, através de uma cadeia de transporte de elétrons, até NADP^+ , originando NADPH. A molécula de clorofila que perdeu o elétron e, portanto, está carregada positivamente, recebe um elétron removido de uma molécula de H_2O . Nesse processo, há liberação de prótons no lúmen, formando um gradiente eletroquímico, o qual é empregado para a síntese de ATP.

Após as reações da *fase luminosa*, ocorre uma série de reações da *fase escura*, as quais utilizam NADPH na redução do CO_2 e sua subsequente fixação em hexose. À medida que a hexose se acumula, a glicose-1-fosfato é utilizada na formação de UDP-glicose que, por sua vez, reage com frutose-6-fosfato para formar sacarose. Relativamente, pouca sacarose é retida como tal nas células fotossintéticas de plantas superiores; a maior parte difunde-se para os sistemas transportadores e é liberada aos tecidos fotossintéticos.

2.5. Fisiologia vegetal e compartimentos

A produção de metabólitos secundários é o resultado de complexas interações entre biossíntese, transporte, estocagem e degradação (Wink, 1990). Cada um desses processos, por sua vez, é governado por genes e, portanto, será influenciado por três fatores principais: hereditariedade, ontogenia (estágio de desenvolvimento) e ambiente (Robbers et al., 1996). A maioria dos mecanismos que regulam tanto a biossíntese quanto a estocagem e a degradação, entretanto, permanecem ainda desconhecidos.

Embora qualquer tecido ou célula vegetal tenha a capacidade de biossintetizar metabólitos secundários, parece que isso ocorre somente em alguns tecidos ou mesmo em células especiais, em função do grau de diferenciação e desenvolvimento dos mesmos. Em alguns casos, a produção pode estar restrita a um estágio específico do desenvolvimento do vegetal ou a determinadas condições ecológicas ou ambientais.

Em várias espécies, o local da biossíntese está restrito a um órgão, enquanto que os produtos são acumulados em toda planta ou em órgãos diferentes, devido a um sistema de transporte intercelular. Nas células, certos mecanismos bioquímicos garantem a condução dos compostos aos compartimentos de estocagem apropriados e a sua concentração contra um gradiente de concentração. Os metabólitos secundários mais hidrofílicos tendem a ser armazenados nos vacúolos, enquanto que os lipofílicos se acumulam em ductos de células mortas ou ligam-se aos componentes celulares lipofílicos, como membranas, ceras cuticulares e lignina (Wink, 1990).

Alguns casos são bem conhecidos, em que a compartimentalização é de fundamental importância para a sobrevivência do vegetal. Por exemplo, os glicosídeos cianogenéticos são estocados nos vacúolos das células epidérmicas e, portanto, encontram-se isolados das hidrolases, localizadas nos tecidos do mesófilo adjacente. Somente nas situações em que os tecidos são danificados (como, por exemplo, durante a mastigação) é que os glicosídeos cianogenéticos e as hidrolases interagem, havendo liberação de HCN. Assim, a própria planta produtora fica protegida e utiliza essa estratégia em caso de ataque por herbívoros.

3. METABOLISMO VEGETAL SECUNDÁRIO

Já foi mencionado que, na maioria das células e organismos, as rotas metabólicas de síntese, degradação e interconversão das moléculas essenciais, bem como as reações que visam à conservação de energia, são similares (metabolismo primário ou intermediário). As rotas metabólicas dos metabólitos secundários, entretanto, não são tão gerais e talvez só sejam ativadas durante alguns estágios particulares de crescimento e desenvolvimento ou em

períodos de estresse causados por limitações nutricionais ou ataque microbiológico (Mann, 1987).

Embora classificadas como sendo do metabolismo primário ou do secundário, as reações bioquímicas não ocorrem independentemente em um mesmo produtor. Alterações no primeiro podem afetar profundamente o segundo e, embora o reverso não seja verdadeiro, alguns casos em que metabólitos secundários são convertidos em primários já foram descritos. Além disso, muitos metabólitos secundários são formados por seqüências de reações análogas àquelas do metabolismo primário. Portanto, a linha divisória entre metabolismo primário e secundário não é nítida.

Como pode ser visualizado na figura 1, a origem de todos os metabólitos secundários pode ser resumida a partir do metabolismo da glicose, via dois intermediários principais, o ácido chiquímico e o acetato. O ácido chiquímico origina os aminoácidos aromáticos, precursores da maioria dos metabólitos secundários aromáticos (item 3.1).

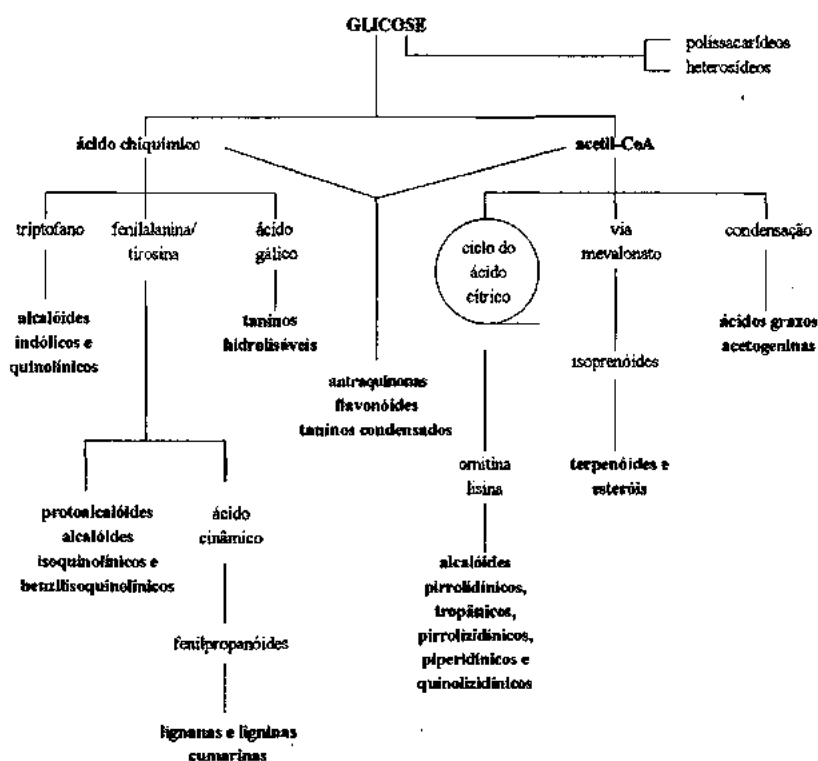


Figura 1. Ciclo biossintético dos metabólitos secundários

Alguns metabólitos secundários derivam não apenas de um desses intermediários, mas são resultantes da combinação de uma unidade de ácido chiquímico e uma ou mais unidades de acetato ou derivados deste, como é o caso das antraquinonas, dos flavonóides e dos taninos condensados (item 3.2).

Já os derivados do acetato podem ser classificados, segundo a via metabólica seguida, em:

- derivados do acetato, via ciclo do ácido cítrico (item 3.3.1);
- derivados do acetato, via mevalonato (item 3.3.2) e
- produtos da condensação do acetato (item 3.3.3).

Além disso, os metabólitos secundários podem ser encontrados na forma livre, sendo denominados genericamente de agliconas, ou estar ligados a uma ou mais unidades de açúcar, formando o que se denomina de heterosídeos (item 3.4).

Embora não classificados como metabólitos secundários, os polissacarídeos, produtos da polimerização de unidades de açúcar, constituem uma importante classe de produtos naturais, de origem vegetal. Por essa razão, foram incluídos neste item, compondo um grupo independente (item 3.5). Neste livro, eles também são objeto de um capítulo à parte.

As informações constantes nos itens 3.1 a 3.5 foram extraídas, principalmente, de Bruneton (1993), Mann (1987), Robbers et al. (1996) e Samuelsson (1992).

3.1. Derivados do ácido chiquímico

O ácido chiquímico é formado pela condensação aldólica de dois metabólitos da glicose: o fosfoenolpiruvato e a eritrose-4-fosfato (figura 2). Uma vez formado, o ácido chiquímico pode ser metabolizado em ácido corísmico ou ácido gálico. Como o pH prevalente na planta torna os ácidos ionizados, tem-se, de fato, chiquimato, corismato e galato, respectivamente.

3.1.1. Taninos hidrolisáveis

O 3-desidrochiquimato é o precursor imediato e preferencial do ácido gálico, uma das unidades de formação dos taninos hidrolisáveis, polímeros polifenólicos de elevado peso molecular, constituídos de unidades de açúcar e ácido gálico e/ou seus derivados (ver capítulo "Taninos").

3.1.2. Alcalóides derivados dos aminoácidos aromáticos

• Derivados do triptofano: alcalóides indólicos e quinolínicos

O ácido corísmico, resultante de uma molécula de ácido chiquímico e uma de fosfoenolpiruvato, origina os aminoácidos aromáticos (figura 3), precursores de vários tipos de alcalóides (figura 4).

As vias biossintéticas que formam os aminoácidos aromáticos estão pre-

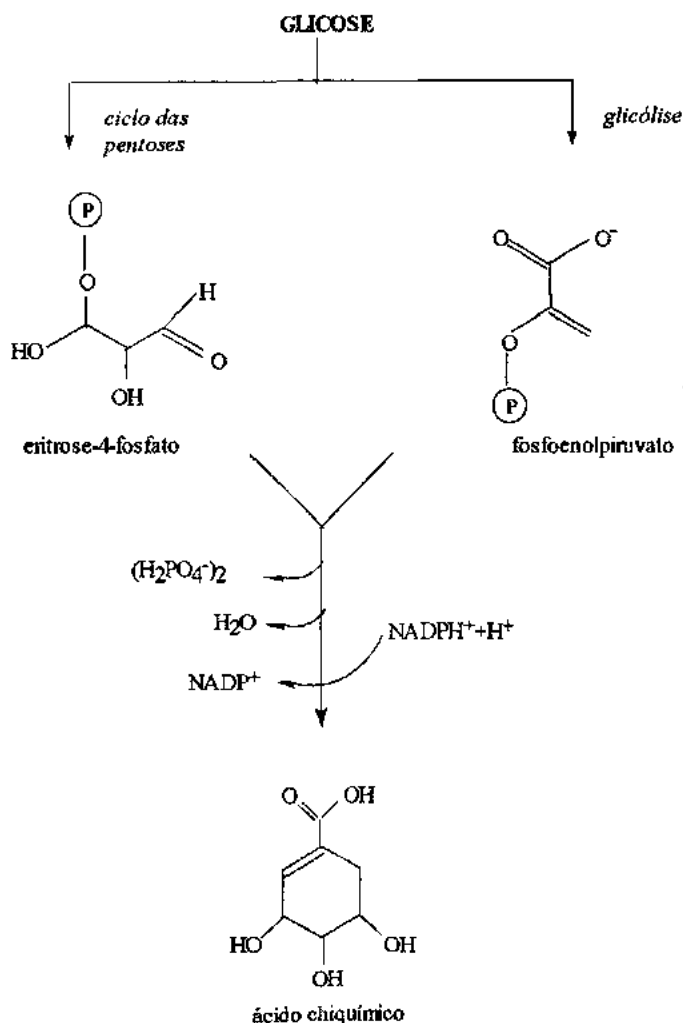


Figura 2. Biossíntese do ácido chiquímico

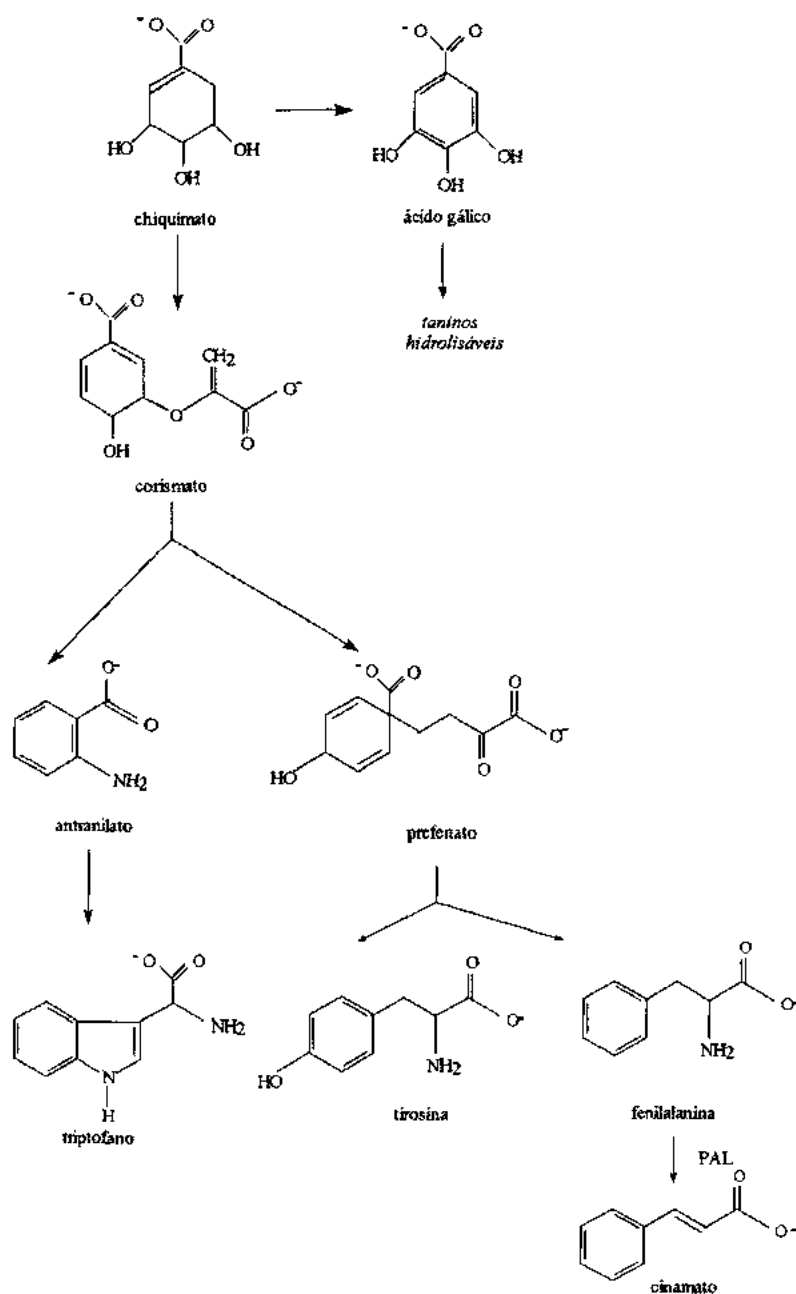


Figura 3. Origem biossintética dos aminoácidos aromáticos

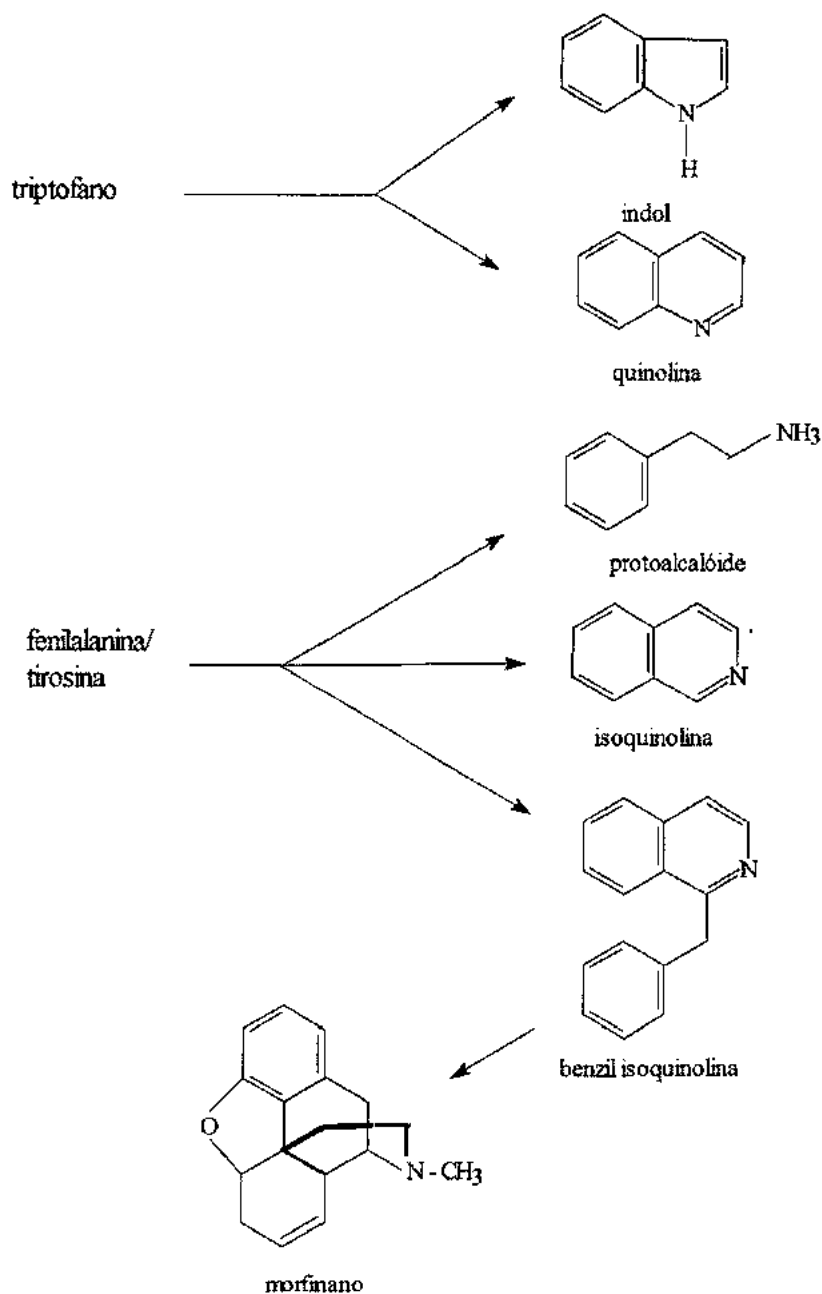


Figura 4. Biosíntese de alcalóides

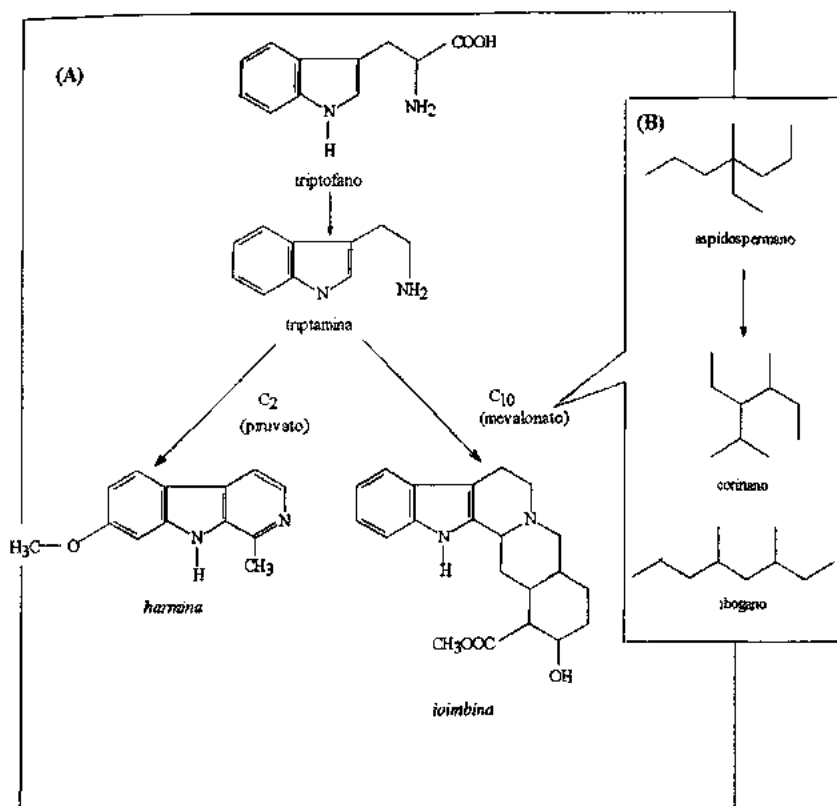


Figura 5. Biossíntese de alcalóides indólicos

sentes em plantas, fungos e bactérias, mas não são encontradas em animais. Por isso, os aminoácidos aromáticos, fenilalanina e triptofano, são considerados nutrientes essenciais na dieta dos animais, enquanto que a tirosina só não é considerada essencial porque pode ser formada a partir da fenilalanina.

Os alcalóides constituem uma classe de metabólitos secundários representada por um número muito grande de substâncias estruturalmente muito diversas e, portanto, difícil de ser definida quimicamente. Segundo Pelletier (1983) um alcalóide é um composto orgânico cíclico contendo um nitrogênio em um estado de oxidação negativo, que é de distribuição limitada entre os seres vivos. Essa definição é suficientemente ampla para contemplar tamanha diversidade química encontrada nesse grupo. Obviamente que, associadas a essa diversidade, estão as diferentes origens biossintéticas dessas substâncias.

Os alcalóides originam-se de aminoácidos. Entretanto, para a formação do esqueleto final de um alcalóide, contribuem outros precursores, tais como terpenos ou esteróides, tornando difícil a sua localização dentro de uma das principais rotas metabólicas já citadas. Para facilitar o seu estudo, os alcalóides costumam ser então classificados de acordo com os sistemas de anéis que constituem a principal parte de suas estruturas, os quais, por sua vez, podem ser classificados de acordo com o aminoácido precursor.

A redução do corismato e a incorporação de amônia (proveniente do aminoácido glutamina) conduz, via ácido antranílico, ao aminoácido essencial triptofano, que é o precursor dos alcalóides indólicos.

Além do triptofano, podem contribuir na estrutura final do alcalóide, unidades C2 provenientes do piruvato ou unidades C5 ou C9/10 provenientes do mevalonato (figura 5A). Os alcalóides indólicos mais complexos derivam de três esqueletos monoterpênicos (C10), formando os tipos aspidoespermano, corinano e ibogano (figura 5B). Dentre os exemplos de maior importância nesse grupo estão os alcalóides de *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. (Apocynaceae), como os dímeros vincristina e vimblastina, empregados no tratamento de leucemia linfocítica aguda e uma variedade de neoplasmas, respectivamente.

Os alcalóides quinolínicos também derivam parcialmente do aminoácido triptofano. Outra parte da molécula deriva da loganina. A substância inicialmente formada sofre rearranjos para formar o núcleo quinolina. Neste grupo encontram-se os alcalóides da *Cinchona*, representados por quinina e quinidina.

• Derivados de fenilalanina/tirosina: protoalcalóides, alcalóides isoquinolínicos e benzilisoquinolínicos

Um rearranjo intramolecular do ácido corísmico produz o ácido prefênico. A descarboxilação deste, seguida de aromatização e aminação redutiva, produz o aminoácido fenilalanina. Uma rota alternativa, a partir do ácido prefênico, conduz à formação da tirosina. Esses aminoácidos originam vários protoalcalóides, substâncias que possuem o átomo de nitrogênio localizado num grupamento amino, sem participar de um anel heterocíclico, como nos demais alcalóides.

O exemplo clássico é a efedrina, derivada biossinteticamente da fenilalanina, a qual fornece o anel aromático e o primeiro carbono da cadeia lateral, sendo que os outros dois vêm do piruvato e o nitrogênio é introduzido por uma reação de transaminação, no final da biossíntese.

A tirosina é o precursor de vários aminoalcalóides e alcalóides isoquinolínicos presentes em *Lophophora williamsii* (Salm-Dyck) J. M. Coult. (Cactaceae), conhecido popularmente como peiote. Este cactus que cresce no sul dos Estados Unidos e norte do México é empregado pelas populações indígenas em cerimônias religiosas. Sua ação alucinógena se deve principalmente

ao protoalcalóide mescalina. A tirosina é descarboxilada a tiramina, seguida por oxidação, originando dopamina. Segue-se uma etapa de metilação e oxidação, originando-se 3,4-di-hidróxi-5-metóxi-fenetilamina, precursor tanto dos protoalcalóides quanto dos alcalóides isoquinolínicos presentes no peiote.

Dentre os alcalóides isoquinolínicos pode-se destacar um grupo de particular interesse em farmacologia: os alcalóides benzilisoquinolínicos, também denominados de alcalóides do ópio, dentre os quais encontram-se os morfínicos. Fazem parte desse grupo a papaverina, a morfina e a codeína, por exemplo. Os dois últimos, do ponto de vista estrutural, podem ser considerados como derivados fenantrênicos, embora biossinteticamente derivem da tirosina, via alcalóides benzilisoquinolínicos.

3.1.3. Fenilpropanóides

A fenilalanina, pela ação da enzima fenilalanina amonialiase (PAL), perde uma molécula de amônia, originando o ácido cinâmico (figura 3). A regulação dessa enzima é um fator crítico na produção dos metabólitos do chiquimato. Nas plantas, a atividade da PAL está sob controle de vários fatores internos e externos, tais como hormônios, níveis de nutrientes, luz, infecção por fungos e lesões. A infecção por fungos, por exemplo, estimula a síntese da PAL, resultando no aumento da síntese dos compostos fenólicos.

Os ácidos cinâmicos são os precursores da maioria dos compostos classificados como fenilpropanóides (ArC3), compostos aromáticos com uma cadeia lateral de três átomos de carbono ligada ao anel aromático. Grande parte desses metabólitos são ácidos ou derivados destes. O próprio ácido cinâmico e seu aldeído (cinamaldeído) são, muitas vezes, classificados como fenilpropanóides.

A redução da cadeia lateral dos ácidos cinâmicos conduz à formação de compostos importantes presentes em óleos voláteis, como por exemplo o eugenol (presente em *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. et L. M. Perry, cravo-da-índia, e empregado em produtos de higiene oral) e o anetol (o principal constituinte dos óleos voláteis de *Pimpinella anisum* L., erva-doce, *Foeniculum vulgare* Mill., funcho, e *Illicium verum* Hook.f., anis-estrelado) (Mann, 1987).

A cadeia lateral também pode perder átomos de carbono, originando derivados ArC2 e ArC1. Muitos compostos fenólicos simples (ver capítulo "Compostos fenólicos simples e heterosídicos") desempenham um papel importante na defesa do vegetal contra insetos herbívoros e fungos. Outros são, freqüentemente, citados como responsáveis pela ação alelopática atribuída a certos vegetais. Os fenilpropanóides também servem como unidades formadoras dos compostos fenólicos mais complexos, como será abordado a seguir.

• Lignóides

Sob este termo encontram-se diversos grupos de substâncias, cuja origem biossintética resulta do acoplamento oxidativo de unidades de ácido cinâmico ou seus derivados (álcoois cinâmílicos, propilfenóis e alilfenóis). Por isso também são considerados como dímeros de fenilpropanóides (ver capítulo “Lignanais, neo-lignanais e seus análogos”).

Dentre os lignóides encontra-se a lignana que, depois da celulose, é a substância orgânica mais abundante nos vegetais. Quimicamente é um polímero de fenilpropanos, altamente ramificado. As unidades de fenilpropano costumam ser álcoois que se unem para formar um polímero através da ação enzimática de peroxidases, as quais, por oxidação, originam radicais livres intermediários que passam a se combinar de forma aleatória e não enzimática. Portanto, a estrutura precisa da lignina não é conhecida.

• Cumarinas

As cumarinas são derivados da 5,6-benzo-2-pirona (α -cromona). Originam-se do ácido *trans*-cinâmico que, por oxidação, resulta no ácido *o*-cumárico, cuja hidroxila fenólica condensa com uma unidade de glicose. Esse composto isomeriza no seu correspondente *cis*, o qual por ciclização, forma a cumarina (figura 6). A prenilação nas posições C-6 ou C-8 do anel benzênico de uma 7-hidróxi-cumarina conduz à formação de pirano ou furanocumarinas (ver capítulo “Cumarinas, cromonas e xantonas”).

3.2. Produtos derivados do ácido chiquímico e do acetato

3.2.1. Antraquinonas

As antraquinonas podem ser formadas via ácido chiquímico e acetato ou totalmente via acetato (acilpolimalonato).

No primeiro caso, o ácido chiquímico reage com o ácido α -cetoglutárico, proveniente tanto da desaminação do ácido glutâmico quanto do ciclo do ácido cítrico, produzindo o ácido *o*-succinilbenzóico. Este produto mais o ácido mevalônico (proveniente do acetato) originam uma antraquinona (figura 7).

A biossíntese das antraquinonas exclusivamente através da via acetato é discutida no capítulo “Quinonas”.

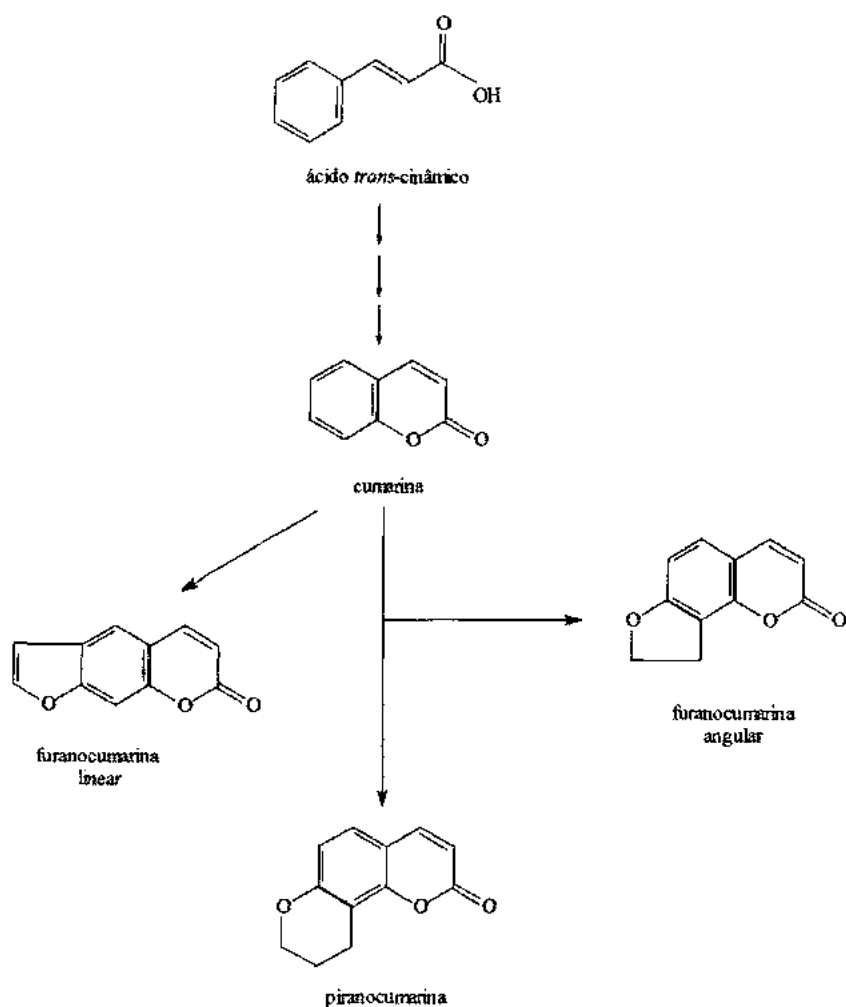


Figura 6. Biossíntese de derivados cumarínicos

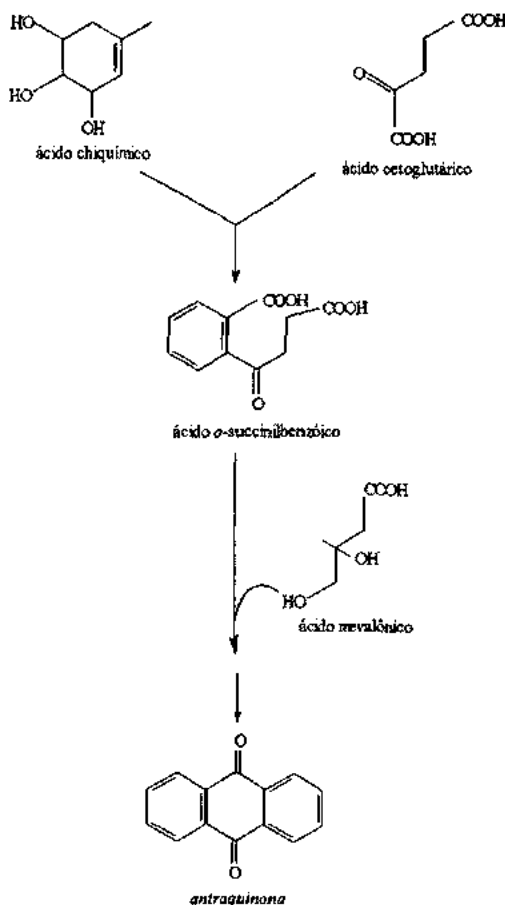


Figura 7. Biossíntese de antraquinonas via ácido chiquímico

3.2.2. Flavonóides e taninos condensados

• Flavonóides

Os flavonóides constituem um grupo de pigmentos vegetais de ampla distribuição na natureza. Sua presença nos vegetais parece estar relacionada com funções de defesa (proteção contra raios ultravioleta, ações antifúngica e antibacteriana) e de atração de polinizadores (ver capítulo “Flavonóides”).

O esqueleto básico dos flavonóides, dois anéis aromáticos conectados por uma ponte de três átomos de carbono (C6-C3-C6), resulta de rotas biossintéticas separadas: a do ácido chiquímico e a do acetato, via ácido malônico. A primeira origina fenilalanina, o precursor do ácido cinâmico (figura 3)

que, por sua vez, origina o ácido cumárico, responsável por um dos anéis aromáticos (anel B) e a ponte de três carbonos. A segunda, resulta no outro anel aromático (anel A) do esqueleto básico dos flavonóides (figura 8).

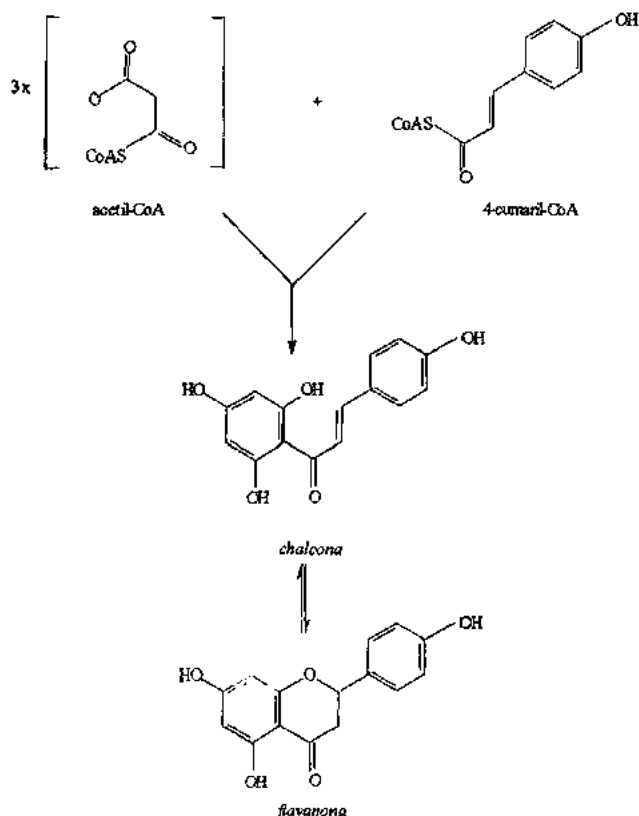


Figura 8. Biossíntese de flavonóides

• Taninos condensados

Os taninos condensados, da mesma forma que os taninos hidrolisáveis e a lignina, são polifenóis de elevado peso molecular, cuja função no organismo produtor é a defesa contra herbívoros, principalmente (ver capítulo "Taninos"). Os taninos condensados são formados pela ligação de unidades de flavonóides, geralmente flavan-3-óis e/ou flavan-3,4-dióis, proveniente do metabolismo dos flavonóides. Eles são formados pela hidroxilação no C-3 de uma flavanona, seguida por redução (figura 9).

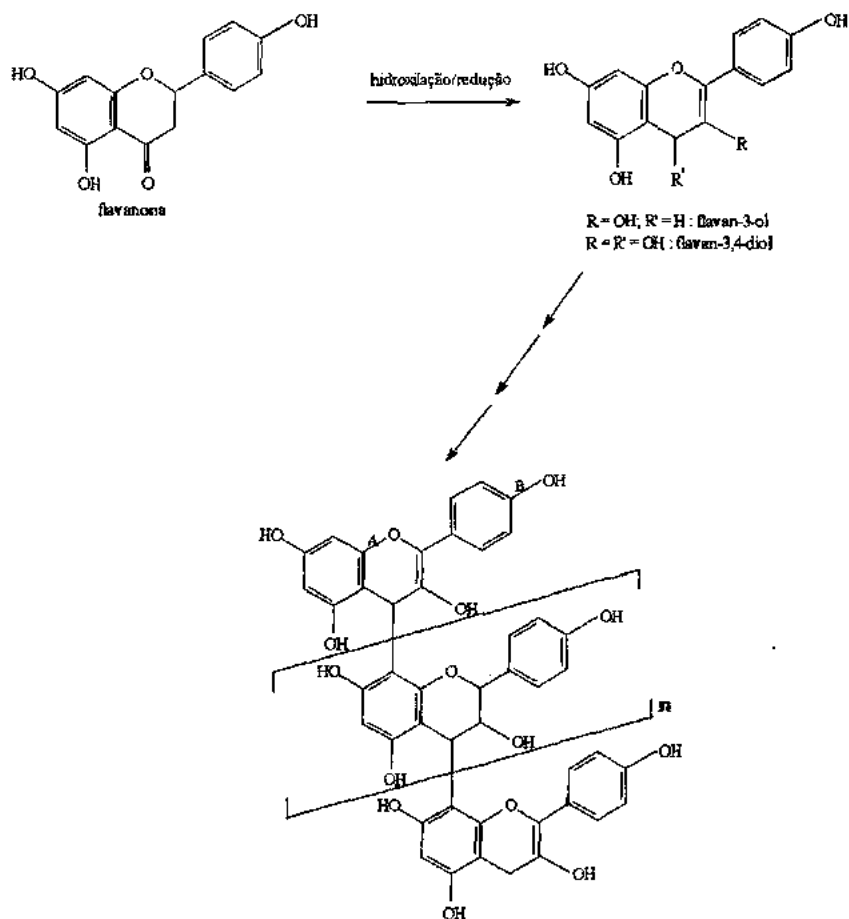


Figura 9. Biossíntese de taninos condensados

3.3. Derivados do acetato

O acetato fornece as unidades acetila que compõem o intermediário relativo, acetil-tio-coenzima A (acetil-SCoA ou acetil-CoA), o verdadeiro precursor de vários grupos de substâncias, tais como os aminoácidos alifáticos (e os alcalóides deles derivados), terpenóides, esteróis, ácidos graxos e triglicerídeos. Os aminoácidos alifáticos originam-se no ciclo do ácido cítrico, enquanto que os demais metabólitos derivam do mevalonato ou da condensação de unidades acetato.

3.3.1. Produtos originados a partir do ciclo do ácido cítrico

O ciclo do ácido cítrico ocorre na matriz mitocondrial e apresenta funções anabólicas e catabólicas. Muitas rotas metabólicas geram os intermediários desse ciclo, como o piruvato e a acetil-CoA, a qual é oxidada a CO_2 . Os metabólitos reduzidos são usados na fosforilação oxidativa (síntese de ATP). Nesse ciclo também formam-se precursores da glicose, porfirina e a maioria dos aminoácidos. Além disso, o ciclo do ácido cítrico fornece unidades da acetil-CoA requeridas para a biossíntese dos ácidos graxos no citoplasma.

Dentre os aminoácidos originados a partir desse ciclo, estão o aspartato e glutamina, além de seus derivados (em vegetais superiores e bactérias) lisina e ornitina, respectivamente (Samuelsson, 1992), importantes precursores de vários grupos de alcalóides (figura 10).

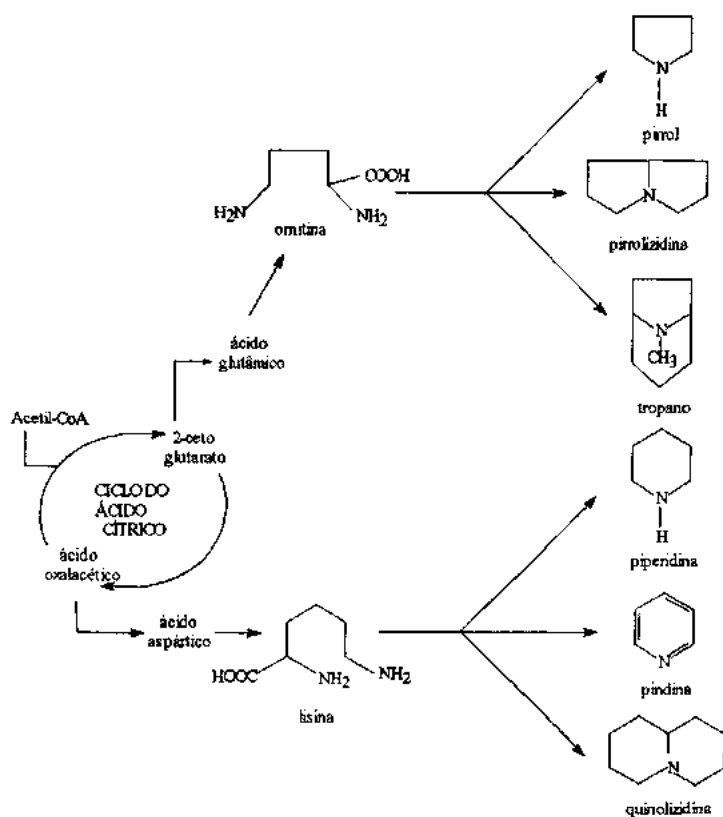


Figura 10. Alcalóides originados a partir do ciclo do ácido cítrico

Os glicosinatos e os glicosídeos cianogenéticos são dois outros grupos de metabólitos vegetais também derivados de aminoácidos.

• **Alcalóides derivados dos aminoácidos alifáticos ornitina e lisina**

Conforme já discutido no item 3.1.2, os alcalóides constituem uma classe muito grande e heterogênea de metabólitos secundários.

Os alcalóides pirrolidínicos, tropânicos e pirrolizidínicos têm origem na ornitina. Composto o grupo dos alcalóides pirrolidínicos podem ser encontradas substâncias relativamente simples, como, por exemplo, a higrina, e também alcalóides mais complexos, do tipo tropânico.

Os alcalóides tropânicos constituem uma importante classe de substâncias de origem natural. Seu núcleo é formado pela condensação de um precursor pirrolidínico (originado da ornitina) com três átomos de carbono derivados do acetato, os quais, por ciclização, dão origem ao segundo anel (piperidínico) do núcleo tropânico. Dois importantes exemplos de alcalóides tropânicos, a hiosciamina e a escopolamina, presentes em vários gêneros da fa-

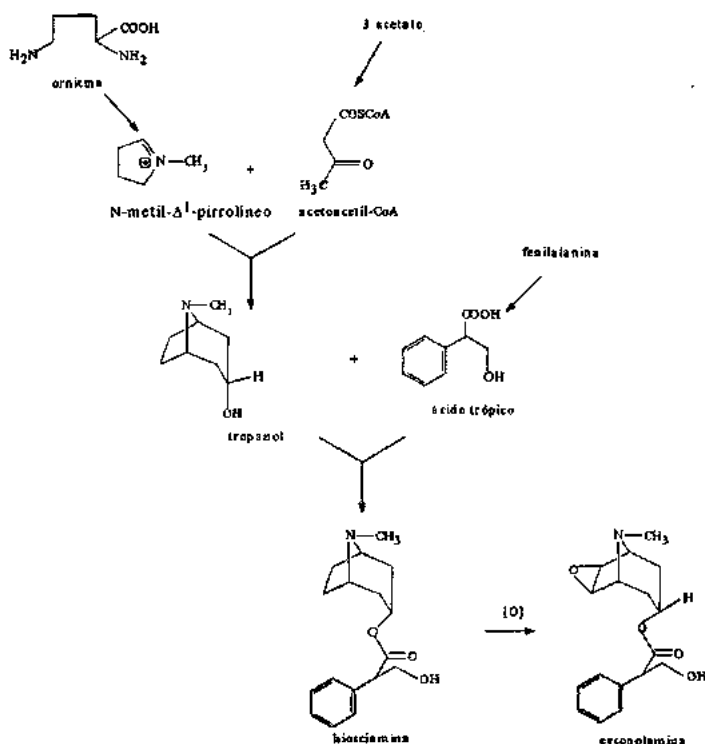


Figura 11. Biossíntese de alcalóides tropânicos

mília Solanaceae, são originados da esterificação do ácido trópico (derivado da fenilalanina) com a tropina (ver capítulo "Alcalóides tropânicos"). O primeiro produto a ser formado é a hiosciamina que, por oxidação, gera a escopolamina (figura 11).

Os alcalóides pirrolizidínicos, ou alcalóides do senécio, derivam de duas moléculas de ornitina, as quais dão origem à estrutura pirrolizidínica que será esterificada por ácidos terpenóides estruturalmente complexos, formados de aminoácidos com uma cadeia carbonada ramificada (valina e isoleucina).

Os alcalóides piridínicos e piperidínicos podem ser originados através de diversas rotas metabólicas (figura 12), dentre as quais uma que parte da lisina. Outra via parte de quatro resíduos do acetato, formando um policetoácido que, através de redução, transaminação e ciclização, origina o núcleo piperidina. Ainda há a possibilidade da biossíntese do núcleo piperidina ocorrer, partindo do glicerol e do ácido aspártico, tendo o ácido nicotínico como intermediário.

Duas moléculas da lisina, através de uma série de reações, originam o alcalóide lupinina, precursor dos demais alcalóides quinolizidínicos. Dois dos intermediários formados nesta rota metabólica podem reagir entre si, originando os alcalóides quinolizidínicos tetracíclicos (figura 13).

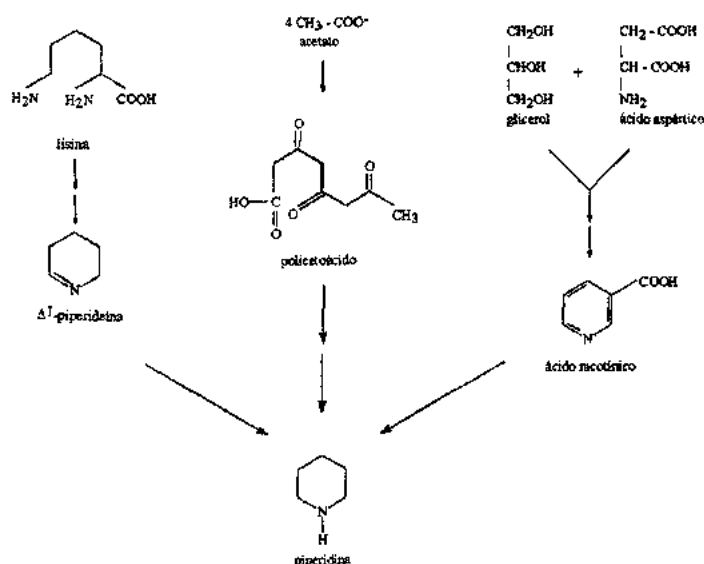


Figura 12. Rotas biossintéticas para a formação do núcleo piperidina

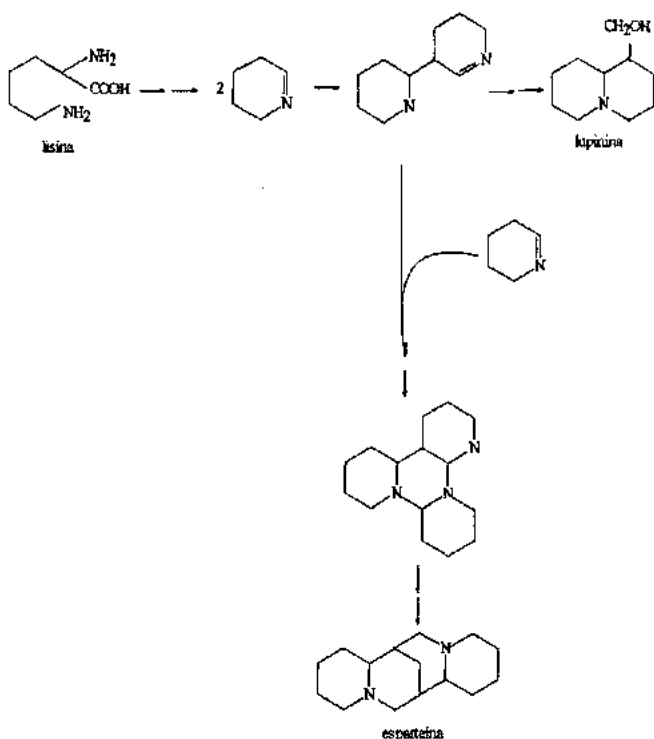


Figura 13. Biossíntese dos alcalóides quinolizidínicos tetracíclicos

• Glicosídeos cianogenéticos e glicosinolatos

Além dos alcalóides, outros compostos nitrogenados com função de proteção são encontrados nos vegetais. Os glicosídeos cianogenéticos e os glicosinolatos não são tóxicos como tal, mas podem hidrolisar facilmente, liberando substâncias voláteis altamente tóxicas.

Os glicosídeos cianogenéticos formam ácido cianídrico, por hidrólise. São substâncias encontradas em todo o reino vegetal, cujas agliconas derivam biossinteticamente de aminoácidos alifáticos (figura 14A), que são N-hidroxilados e descarboxilados a uma aldoxima. A formação da nitrila correspondente se dá pela perda de água. A hidroxilação da nitrila permite a subsequente ligação com um açúcar, formando um glicosídeo (heterosídeo).

Os próprios vegetais que produzem os glicosídeos cianogenéticos também possuem as enzimas necessárias para sua hidrólise, até a liberação do HCN. Na primeira etapa, o açúcar é clivado por uma glicosidase. O produto da hidrólise, uma α -hidróxi-nitrila, pode se decompor espontaneamente para liberar o HCN, ou sofrer a ação de uma hidróxi-nitrila-liase, capaz de acele-

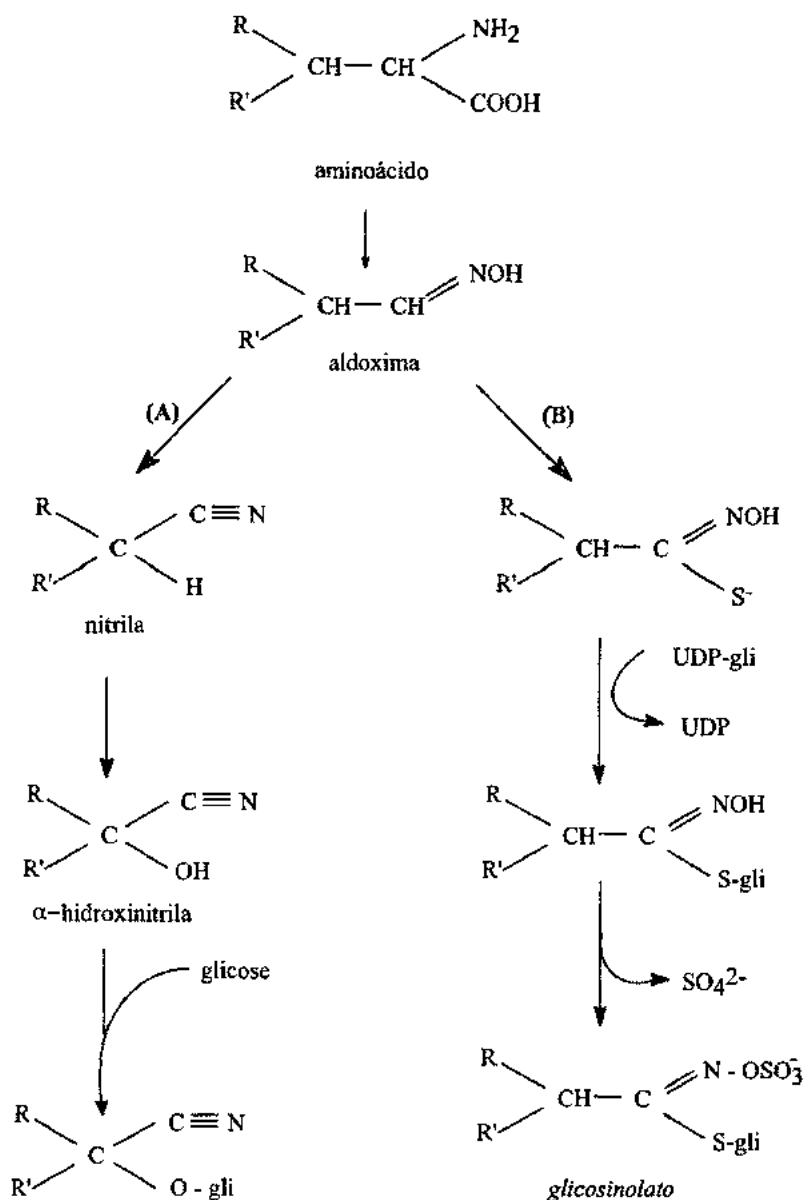


Figura 14. Biossíntese de (A) glicosídeos cianogenéticos e (B) glicosinolatos

rar significativamente o processo. Essa degradação dos glicosídeos cianogénicos normalmente não ocorre nos vegetais intactos porque os glicosídeos e as enzimas capazes de degradá-los estão em compartimentos separados. Entretanto, no momento em que os tecidos são lesados, por exemplo durante a mastigação, os conteúdos celulares são misturados, permitindo as reações.

Os glicosinolatos também derivam de aminoácidos e sua biossíntese é análoga a das agliconas dos glicosídeos cianogénicos (figura 14B). O átomo de enxofre que liga a aglicona ao açúcar é fornecido por aminoácidos sulfurados, principalmente a cisteína. Os glicosinolatos originam compostos responsáveis pelo aroma e gosto de vegetais como o repolho e o brócoli, pela ação de uma enzima hidrolítica, uma tioglicosidase, responsável pela clivagem da ligação entre uma unidade de glicose e um átomo de enxofre. A aglicona resultante sofre um rearranjo para originar substâncias pungentes e quimicamente reativas, dentre as quais tiocianatos, isotiocianatos e nitrilas (ver capítulo “Compostos com enxofre”). Esses produtos atuam como defesa contra herbívoros e como repelentes alimentares. Na planta intacta, eles também se encontram estocados em compartimentos isolados das enzimas hidrolíticas.

3.3.2. Produtos da via mevalonato

• Derivados do isopreno (óleos voláteis, saponinas e heterosídeos cardiotônicos)

O mevalonato é formado da condensação de uma unidade da acetoacetil-CoA com uma molécula da acetil-CoA. Após a condensação aldólica, ocorre uma hidrólise originando a 3-hidróxi-3-metilglutaril-CoA que é reduzida a mevalonato, numa reação irreversível. O mevalonato é então convertido em isopentenil-pirofosfato, ou *isopreno ativo*, a unidade básica na formação dos terpenos e esteróides. A polimerização do mevalonato vai originar moléculas de cadeias carbonadas crescentes de cinco em cinco átomos de carbono. A molécula de isopentenil-pirofosfato e seu isômero dimetilalil-pirofosfato formam *trans*-geranil-pirofosfato, a partir do qual formam-se os demais terpenos (figura 15). Novas ligações *cabeça-cauda* entre *trans*-geranil-pirofosfato e isopentenil-pirofosfato resultarão em sesqui (C15) e diterpenos (C20). Já a ligação *cabeça-cabeça* entre duas moléculas de farnesil-pirofosfato (C15) dará origem ao esqualeno, o precursor da maioria dos triterpenos e esteróides.

Mono e sesquiterpenos são as principais substâncias que compõem as misturas chamadas de óleos voláteis. Os triterpenos (C30) originam-se da ciclicização do esqualeno, enquanto que os esteróides (C27) podem ser considerados metabólitos dos triterpenos, uma vez que originam-se do cicloartenol, com a perda de três grupos metila. Dentre os triterpenos e esteróides de origem vegetal de importância estão as saponinas. Os heterosídeos cardiotônicos têm seu núcleo fundamental originado do colesterol, também derivado da ciclicização do es-

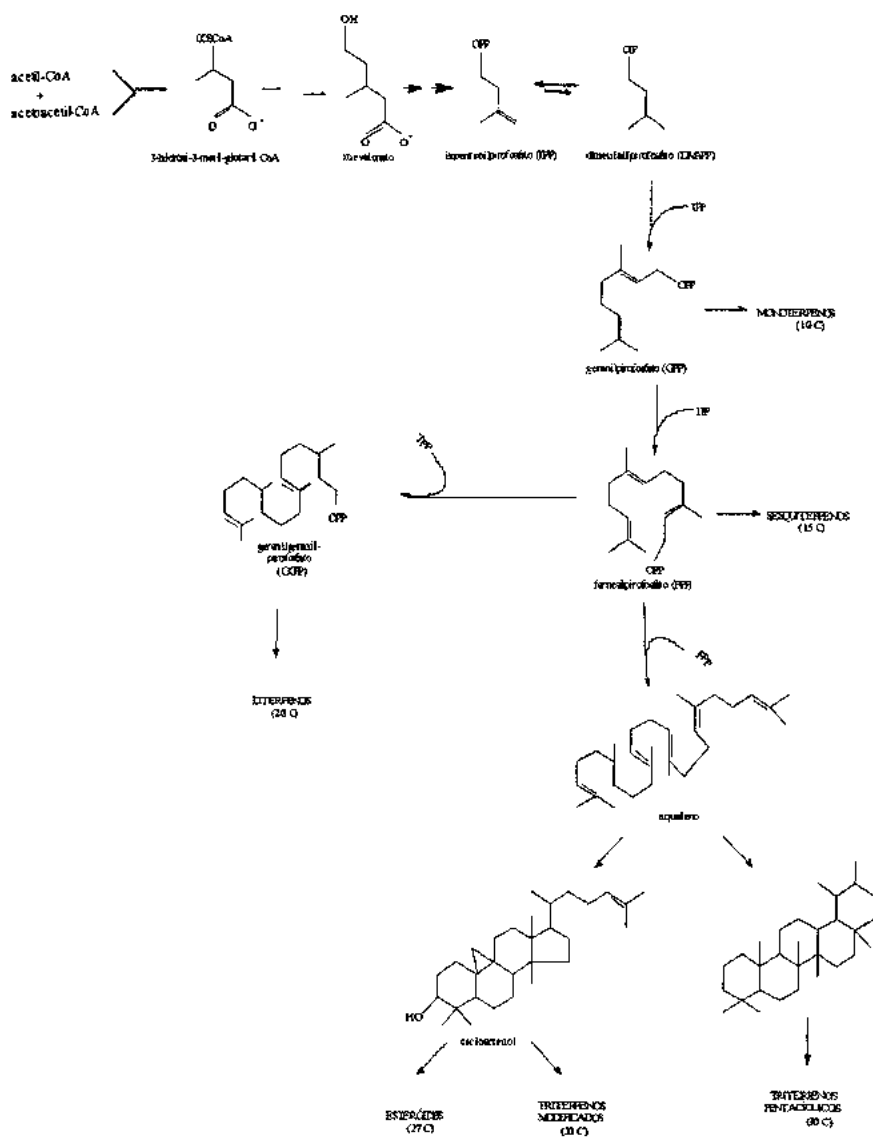


Figura 15. Biossíntese dos terpenos

qualeno. Óleos voláteis, saponinas e heterosídeos cardiotônicos são abordados em capítulos à parte e específicos.

3.3.3. Produtos da condensação da acetil-CoA

A condensação de unidades do acetato, também conhecida como a rota biossintética do acilpolimalonato, origina substâncias de longas cadeias carbonadas, os ácidos graxos, e estruturas cíclicas, as acetogeninas (também denominados de policetídeos ou poliacetatos).

• Ácidos graxos

Uma etapa chave na biossíntese dos ácidos graxos é a carboxilação da acetil-CoA, mediada por biotina, a malonil-CoA, o verdadeiro substrato da etapa de alongamento da cadeia carbonada. A biossíntese inicia com a complexação de um resíduo acetila e de um malonila a uma proteína especial. A segunda etapa consiste no acoplamento de um resíduo acetila e um malonila, com eliminação de CO_2 . Numa seqüência de ciclos que se repetem sete vezes (figura 16), a cadeia carbonada aumenta em dois carbonos por ciclo até a formação do ácido palmítico (C_{16}). Os ácidos graxos insaturados geralmente são produzidos posteriormente por desidrogenação dos saturados.

A desidrogenação e/ou a oxidação dos ácidos graxos dará origem a outros produtos naturais de cadeia longa. Os ácidos graxos também podem ser transformados em compostos heterocíclicos. Os ácidos graxos esterificados com álcoois originam os triglicerídeos e outras gorduras, designadas por lipídeos (ver capítulo "Lípidos: química y productos naturales que los contienen").

• Acetogeninas

A condensação de unidades C_2 derivadas do acetato, sem que haja redu-

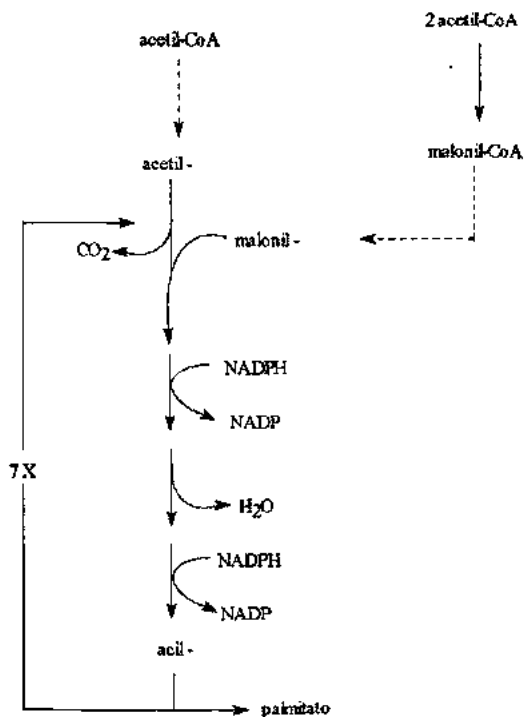


Figura 16. Biossíntese dos ácidos graxos

ção, teoricamente forma um ácido β -políceto que, por eliminação de água, pode ciclizar de vários modos, originando anéis benzênicos ou pirônicos (figura 17). Essa rota, além da via do ácido chiquímico, produz compostos aromáticos, tais como as antraquinonas.

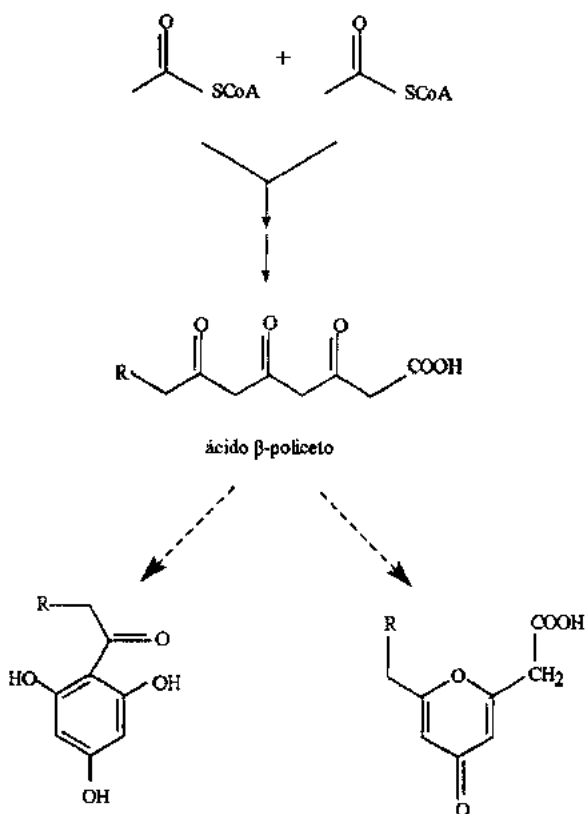


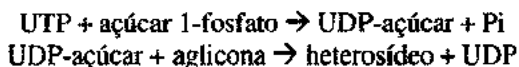
Figura 17. Biossíntese de anéis benzênicos e pirônicos

3.4. Heterosídeos

Os heterosídeos são compostos resultantes da ligação covalente formada entre uma ou mais unidades de açúcar e outra estrutura diferente, chamada de aglicona. A rigor, a biogênese de um heterosídeo deve ser considerada desde a formação da aglicona até a ligação desta a uma ou mais unidades de açúcar. Vários ti-

pos de agliconas já foram abordados anteriormente (por exemplo: flavonóides e antraquinonas). Portanto, aqui somente será abordada a etapa final de formação dos heterosídeos, cuja reação geral é provavelmente similar em todos os sistemas biológicos, contrastando com as rotas biogenéticas dos vários tipos de agliconas (Robbers et al., 1996).

A principal rota para a formação de heterosídeos envolve, em primeiro lugar, a fosforilação de um açúcar, que tanto pode ser uma pentose quanto uma hexose ou ainda algum derivado de açúcar. O açúcar 1-fosfato formado reage, então, com uridina trifosfato (UTP), por ação de transferases, resultando em uridina difosfato-açúcar e fosfato inorgânico. Na etapa seguinte, mediada por uma glicosiltransferase, o UDP-açúcar reage com uma aglicona, resultando o heterosídeo e UDP livre. Uma vez que o heterosídeo foi formado, outras enzimas podem transferir outras unidades de açúcar à porção monossacarídica, convertendo-a em dissacarídeo. De forma análoga, pode haver a produção de tri- e de tetrassacarídeos.



O açúcar deve estar em sua forma cíclica, sendo a hidroxila da função hemiacetalica o seu ponto de ligação, a qual originará α ou β -heterosídeos de acordo com sua configuração. Se o ponto de ligação da aglicona for uma hidroxila alcoólica ou fenólica, o composto resultante será um O-heterosídeo. Se na ligação estiver envolvido um grupo amina, o produto será um N-heterosídeo. Ainda há os C-heterosídeos, resultantes da ligação C-C entre açúcar e aglicona, e os S-heterosídeos, originados de forma análoga aos O-heterosídeos.

Muitas das substâncias provenientes de vegetais e farmacologicamente importantes são heterosídeos e, embora sua atividade seja em grande parte devida à aglicona, a presença de açúcar numa molécula altera algumas de suas características.

3.5. Polissacarídeos

A condensação de moléculas de açúcar dá-se pelo estabelecimento de ligações osídicas formadas através de reações catalizadas por enzimas entre uma hidroxila hemiacetalica de um monossacarídeo e uma hidroxila alcoólica de outro. O produto resultante, um dissacarídeo, pode servir de substrato para nova reação, e assim sucessivamente, originando os oligo (até 10C) e os polissacarídeos de elevado peso molecular (mais que 10C) (ver capítulo "Polissacarídeos").

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BRUNETON, J. *Pharmacognosie. phytochimie. Plantes Médicinales*. 2.ed. Paris: Tec & Doc, 1993.
- GOTTLIEB, O.R.; KAPLAN, M.A.C.; BORIN, M.R. DE M.B. *Biodiversidade, um enfoque químico-biológico*. Rio de Janeiro: UFRJ, 1996.
- HARBORNE, J.B. *Introduction to ecological biochemistry*. 3.ed. London: Academic, 1988.
- MANN, J. *Secondary metabolism*. 2.ed. Oxford: Clarendon, 1987.
- PELLETIER, S. W. The Nature and definition of an alkaloid. In: PELLETIER, S. W. (ed.). *Alkaloids. Chemical and biological perspectives*. New York: John Wiley, 1983. p. 1-31.
- RHODES, M.J.C. Physiological roles for secondary metabolites in plants: from progress, many outstanding problems. *Plant Mol. Biol.*, v. 24, n. 1, p. 1-20, 1994.
- ROBBERS, J.E.; SPEEDIE, M.K.; TYLER, V.E. *Pharmacognosy and pharmacobiotechnology*. Baltimore: Williams & Wilkins, 1996.
- SAMUELSSON, G. *Drugs of natural origin. A textbook of pharmacognosy*. Stockholm: Swedish Pharmaceutical, 1992.
- WATSON, J. D. *Molecular biology of the gene*. New York: W. A. Benjamin, 1965.
- WINK, M. Physiology of secondary product formation in plants. In: CHARLWOOD, B.V.; RHODES, M.J.C. (ed.). *Secondary products from plant tissue culture*. Oxford: Clarendon, 1990.

5. SUGESTÕES PARA LEITURA

- ALBERTS, B.; BRAY, D.; LEWIS, J.; RAFF, M.; ROBERTS, K.; WATSON, J. *Bio-logia molecular da célula*. 3.ed. Porto Alegre: Artes Médicas, 1997.
- DE ROBERTIS, E.D.P. *Bases da biologia celular e molecular*. 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1994.
- JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. *Biologia celular e molecular*. 6.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997.
- KOOLMAN, J.; RÖHM, K.H. *Color atlas of biochemistry*. Stuttgart: Thieme, 1996.
- MURRAY, R.K.; GRANNER, D.K.; MAYES, P.A.; RODWELL, V.W. *Harper: bio-química*. 7.ed. São Paulo: Atheneu, 1994.
- STRYER, L. *Bioquímica*. 4.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996.

LÍPIDOS: QUÍMICA Y PRODUCTOS NATURALES QUE LOS CONTIENEN

AUTORES

Patrick Moyna
Horacio Heinzen

SUMARIO DO CAPÍTULO

1. Definición
2. Clasificación
3. Ácidos grasos
4. Análisis industrial de lípidos
5. Aceites fijos
6. Ceras
7. Bibliografía y lecturas recomendadas

1. DEFINICIÓN

Los lípidos se definen por exclusión, frente a los otros grandes grupos de compuestos del metabolismo celular primario (carbohidratos, proteínas y ácidos nucleicos), por su característica insolubilidad en agua y por su solubilidad en solventes orgánicos. Así, "Lípidos son aquellos compuestos de origen biológico que son solubles en solventes orgánicos". Esta definición incluía inicialmente grupos de compuestos, como los triglicéridos, fosfolípidos y ceras, pero la familia se ha ido ampliando cada vez más con el descubrimiento de nuevos grupos integrantes, lo que la ha vuelto cada vez más vaga. Actualmente la "clase" de los lípidos va desde los hidrocarburos céreos, solubles en hexano, hasta, por ejemplo, los cerebrósidos, solubles en solventes hidrofílicos como el metanol. Por eso preferimos la definición mas específica "Lípidos son aquellos compuestos de origen biológico que son solubles en solventes orgánicos y en los que alguna de sus estructuras más simples derivan biosintéticamente del complejo enzimático Acido Graso Sintetasa (FAS)."

La definición ha evolucionado al mismo tiempo que la comprensión de su significado biológico. De ser considerados solo agentes de reserva energética de la célula pasaron, además, a ser considerados mensajeros en distintos procesos metabólicos, marcadores inmunológicos, etc.

2. CLASIFICACIÓN

Dada la amplitud de la definición, se han desarrollado diversas clasificaciones, todas utilitarias, adecuadas al objetivo específico que se persiga en cada caso al encarar su estudio.

Así, desde un punto de vista químico los lípidos se clasifican en
 simples
 complejos
 derivados.

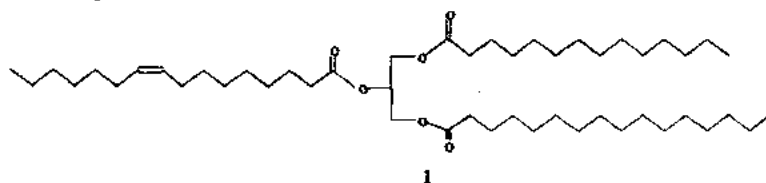
Desde de un punto de vista fisicoquímico se los considera
 neutros
 polares.

Desde un punto de vista fisiológico se pueden agrupar como
 de reserva
 estructurales
 de recubrimiento.

2.1. Relaciones entre las distintas clasificaciones

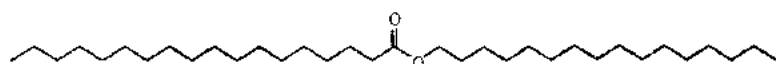
Emplearemos en la siguiente discusión el criterio químico, y compararemos los diferentes tipos de clasificaciones para observar la cercana correspondencia entre ellas.

Simples son aquellos lípidos en los que solo se encuentra un tipo de unión química. El ejemplo mas común es el de los triglicéridos 1, ésteres de ácidos grasos y L-glicerol.

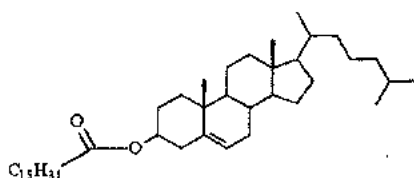


Otro ejemplo típico son los ésteres cerosos 2 y del colesterol 3, donde un ácido graso esterifica un alcohol graso o un esteroide. La unión puede ser amida, como en el caso de las ceramidas 4, compuestos que resultan de la unión de un ácido graso y la esfingosina (2-D-*eritro*-1,3- dihidroxi-2-amino-4-*trans* octadeceno). Obsérvese que todos los lípidos simples pueden considerarse neutros, pero pueden ser de reserva 1, estructurales 4 o de revestimiento 2.

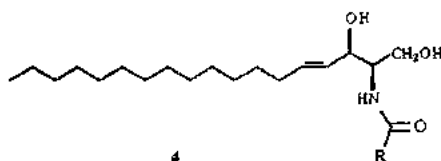
Lípidos complejos son aquéllos en los que existe más de un tipo de unión química. Puede ser una unión éster orgánica y otra inorgánica en el L-glicerol, como en el caso de los ácidos fosfatídicos 5. Si el ácido fosfórico está esterifi-



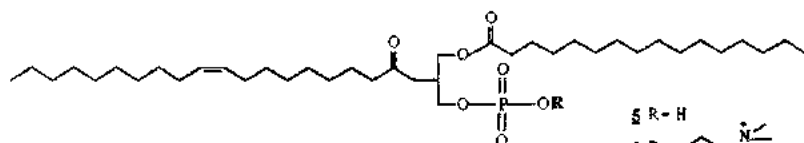
2



3



4

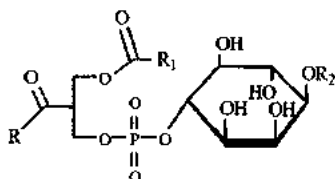


5 R = H

6 R =

7 R =

8 R =

9 R = R₁ = Ale R₂ = H10 R = R₁ = Ale R₂ = PO₃⁻

cado por una alcohol-amina como la colina, la etanolamina, o la serina, tenemos los fosfolípidos comúnmente llamados lecitinas 6, 7, 8, componentes fundamentales de las membranas celulares.

Si el ácido fosfatídico se esterifica con un poliol como el mio-inositol, resultan los fosfatidil-inositóles 9, que se encuentran en el músculo cardíaco. Si uno o dos hidroxilos se encuentran esterificados con otros grupos fosfato estamos frente a los fosfoinositósidos 10, que solamente se han encontrado en el tejido cerebral.

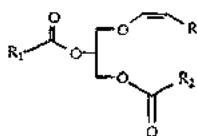
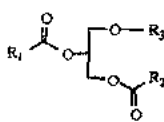
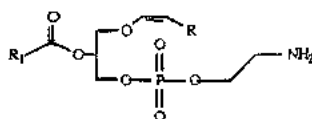
Se debe hacer mención a algunas características estructurales de los fosfolípidos:

– El hidroxilo secundario del glicerol está esterificado con una molécula de ácido graso insaturado.

– Los ácidos grasos saturados, si aparecen, esterifican el C-1.

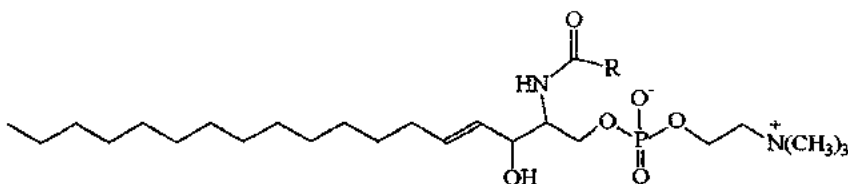
– En su mayoría, son compuestos ópticamente activos.

Otro tipo de lípido complejo es el de los gliceril-éteres. En ellos, el C-1 del L-glicerol está esterificado, ya sea formando un enol-éter 11 o un éter simple 12. Los enol-éteres -también llamados viniléteres- son constituyentes de diferentes tipos de tejidos en invertebrados y peces, pero cuando el C-3 del glicerol se une a una fosfatidiletanolamina se forma un plasmalógeno 13. Los plasmalógenos son compuestos que tienen una distribución muy amplia en el Reino Animal.

111213

La esfingomielina 14 forma el 10% de los lípidos fosforados del cerebro. Es el éster de la fosfatidilcolina con el hidroxilo en C-1 de las ceramidas. Cuando la unión del hidroxilo C-1 de una ceramida es acetálica con un monosacárido -generalmente galactosa- u otro oligosacárido, tenemos las glicosilceramidas. Más específicamente son llamados cerebrósidos si el ácido que forma la unión amida es el ácido tetracosanoico -lignocérico- hidroxilado en C-2 (cerebrónico), o el correspondiente insaturado en C-9 (nervónico). Si el ácido esterificante es el ácido siálico o un derivado, tenemos los gangliósidos. La esterificación de la galactosa con un sulfato da lugar a los sulfátidos. Todos estos lípidos son constituyentes principales del tejido cerebral y de las vainas de mielina neuronales. Se encuentran también en otros órganos y tejidos combinados con proteínas con las que pueden formar lipoproteínas o glico-lipoproteínas. La importancia fisiológica de estos compuestos es cada vez más reconocida, al asociarse su presencia o ausencia con diversas patologías, y al ser identificados como factores inmunológicos.

Obsérvese que todos los lípidos complejos pueden considerarse como polares, pero pueden ser de reserva, estructurales o de revestimiento.

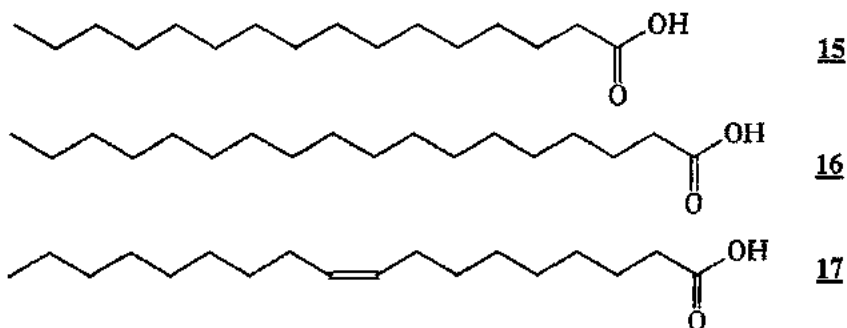
14

Lípidos derivados son aquellos compuestos solubles en solventes orgánicos hidrófobos que resultan de la hidrólisis ácida o alcalina de lípidos simples o complejos. Los ácidos grasos libres son el principal grupo de lípidos derivados.

3. ÁCIDOS GRASOS

Por ácidos grasos entendemos los ácidos monocarboxílicos lineales, ramificados o no, de 4 o más átomos de carbono. En la Naturaleza cuatro ácidos grasos forman el 95 % de los ácidos que se encuentran en los diversos tipos de lípidos. Estos son:

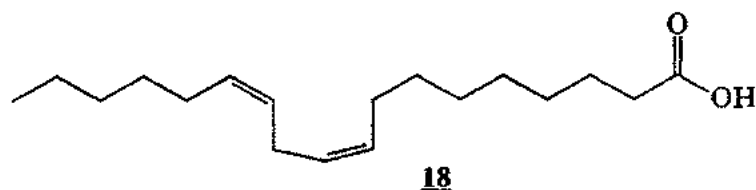
ácido palmítico (C_{16})	<u>15</u>
ácido esteárico (C_{18})	<u>16</u>
ácido oleico (C_{18})	<u>17</u>
ácido linoleico (C_{18})	<u>18</u>



En los últimos treinta años se han aislado una gran cantidad de ácidos grasos minoritarios. Algunos de ellos tienen estructuras inusuales.

3.1. Nomenclatura

Para nombrar los ácidos grasos se han desarrollado diversos tipos de nomenclatura. El nombre trivial es el más comúnmente empleado. Pero, si por ejemplo consideramos el ácido linoleico 18, las distintas posibilidades de nombrarlo que se encuentran en la literatura son:



- según IUPAC: ácido *cis,cis*-octadec-9,12-dienoico
- en forma resumida: C18:2 Δ 9,12, donde el C18 indica el número de átomos de carbono; 2 el número de insaturaciones y donde Δ indica la configuración *cis* del doble enlace.
- para los estudios de bioquímica y biosíntesis, se usa: C18:2 ω :6. C18 indica el número de átomos de carbono; 2 el número de insaturaciones y ω :6 el número de átomos de carbono desde el metilo terminal hasta el doble enlace, que está en configuración *cis* y tiene un puente metileno entre ambos dobles enlaces.

De particular importancia por su aplicación como suplementos dietarios para prevenir enfermedades cardiovasculares son los ácidos grasos Cn:m ω :3 (donde $n > 18$ y $m > 3$) que se encuentran en aceites de pescado.

3.2. Biosíntesis de ácidos grasos

La biosíntesis de ácidos grasos (figura 1) es realizada por un complejo enzimático llamado Ácido Graso Sintetasa (FAS). Esta reacción adiciona secuencialmente unidades de dos átomos de carbono a la cadena lineal creciente, que sufre una serie de procesos de óxido-reducción y transesterificación que culminan en la formación de la cadena saturada. Básicamente, estos intermediarios se unen a través de un enlace tioéster a la Proteína Portadora de Acilo (ACP) que transporta el radical hidrocarbonado a las distintas enzimas del complejo para realizar una reacción específica por vez.

El acetato, que proviene de la degradación de glucosa *vía* piruvato, es transformado en un malonilo mediante la adición de CO_2 , antes de entrar en el complejo FAS. Esta reacción necesita biotina como cofactor y la intervención de la biotin-carboxilasa para obtener un resto carboxilo activado que se adiciona rápidamente a una AcetilCoA produciendo MalonilCoA. El grupo metileno activo correspondiente al CH_2 original del acetato es el nucleófilo que se adicionará a la creciente cadena hidrocarbonada. El CO_2 que se adicionó por la reacción es el que se desprende durante la condensación. Por eso el aumento neto es de dos átomos de carbono. La secuencia de reacciones es la siguiente:

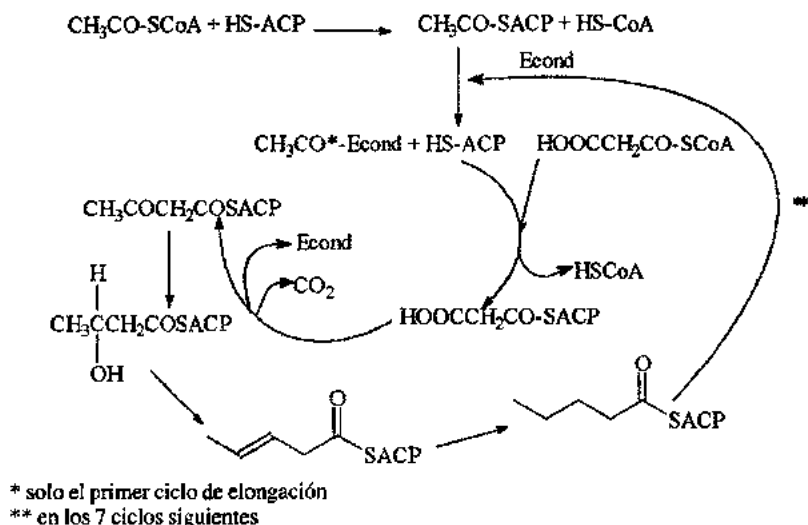


Figura 1. Biosíntesis de ácidos grasos

Los pasos se repiten dirigidos por una enzima condensante (*Econd*) hasta llegar a una longitud de la cadena hidrocarbonada de 16 átomos de carbono. A partir de este punto, entran en acción elongasas específicas que aumentan el tamaño de la cadena de dos en dos carbonos. Este proceso puede llegar, en el caso de las ceras vegetales, a la biosíntesis de ácidos de 30 átomos de carbono. Generalmente se adiciona una unidad de acetato para dar

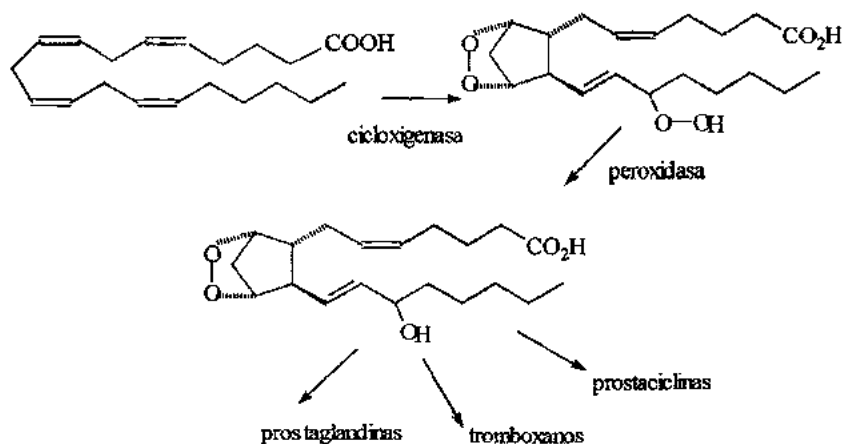


Figura 2. Biosíntesis de prostaglandinas

el ácido esteárico y luego por acción de desaturasas específicas, los ácidos oleico, linoleico, etc.

La elongación de la cadena a 20 átomos de carbono y la inclusión de 4 insaturaciones produce el ácido araquidónico, que es el precursor en la biosíntesis de prostaglandinas y tromboxanos por la intermediación de lipooxigenasas y ciclooxigenasas (figura 2). Este mecanismo tiene gran importancia en los procesos inflamatorios, de dolor y de coagulación de la sangre. El bloqueo de este paso es el objetivo de una gran cantidad de fármacos, siendo el más conocido el ácido acetilsalicílico.

3.3. Determinación de estructuras

3.3.1. Generalidades

Los avances en las técnicas cromatográficas, en particular de cromatografía gaseosa, han permitido aislar nuevos ácidos grasos que están presentes como trazas, como se dijo anteriormente, cuya estructura ha sido elucidada mediante la aplicación de técnicas espectroscópicas y químicas.

3.3.1.1. Espectroscopía Ultravioleta (UV)

La espectroscopía UV no ha encontrado gran aplicación en el análisis y determinación estructural de lípidos. Su mayor aplicación ha sido en la determinación de la fracción "insaponificables" donde la presencia de antioxidantes de estructuras fenólicas naturales (tocoferoles, sesamol) o de los antioxidantes artificiales BHT y BHA se puede evidenciar por la absorción en el UV.

De todas maneras permite detectar la presencia de sistemas π conjugados, y carbonilos α,β insaturados así como los cambios que se producen por la acción de lipoxigenasas en las que el ácido linoleico, por ejemplo, pasa a un sistema conjugado HOO-*trans-cis*-.

3.3.1.2. Espectroscopía Infra-roja (IR)

La espectroscopia infra-roja permite distinguir con facilidad la presencia de dobles enlaces *cis*, *trans* o vinílicos. La determinación por Infra-Rojo del porcentaje de ácidos grasos en configuración *trans* en margarinas y triglicéridos que han sido industrialmente procesados, es un método oficial de la AOAC. La presencia de dobles enlaces conjugados puede ser también fácilmente detectada en base al *stretching* a $950-998\text{ cm}^{-1}$ (tabla 1).

Otras señales resultan de menor interés, aunque la aplicación en casos específicos brinda la información inicial sobre hacia dónde encaminar el análisis, a saber, la presencia de sistemas α,β insaturados respecto al carboxilo, de cetonas, de epóxidos, ciclopropanos, etc.

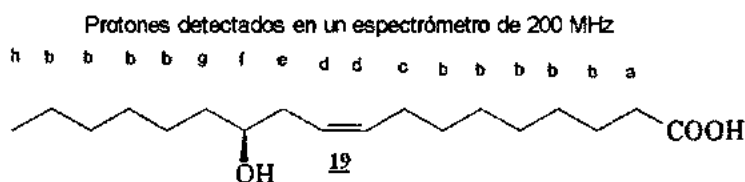
TABLA I
Absorción al IR de cromóforos más importantes

Cromóforo	Configuración	Absorción (cm ⁻¹)
monoeno	<i>trans</i>	968
dieno (conjugado)	<i>trans-trans</i> <i>cis-trans</i>	988 985, 950
trieno (conjugado)	<i>trans-trans-trans</i> <i>trans-trans-cis</i> <i>cis-trans-cis</i>	994 993, 965 988, 937
vinilo		990, 910
triple enlace		950
epóxido		850, 825
oxo		1725
oxo α,β insaturado		1640
ciclopropeno		1850, 1810
hidroxilo		3450

3.3.1.3 Espectroscopía Resonancia Magnética Nuclear (NMR)

La espectroscopía NMR ha permitido un gran desarrollo del análisis de lípidos a partir del uso de espectrómetros de alta resolución empleando Transformada de Fourier. Tanto el espectro ¹H como el de ¹³C brindan información clara sobre los grupos funcionales presentes.

Particularmente interesante es la determinación de la configuración de los dobles enlaces a través de las constantes de acoplamiento *cis* y *trans*. En los últimos años, el empleo de experimentos bidimensionales ha permitido la asignación inequívoca de las señales observadas para los distintos ácidos. Por ejemplo, es posible distinguir series *iso* y *anteiso*, detectar ω -hidroxiácidos y α -hidroxiácidos en muestras crudas de lanolina en un solo experimento. El uso de complejos de metales de transición (lantánidos como el Europio y el Praseodimio) con ácidos grasos ha permitido asignar todas las señales en un único experimento, fundamentalmente en el caso de hidroxi-ácidos, como es el caso del ácido ricinoleico **19** (figura 3).



Protones detectados luego de adicionar EuCl₃

Figura 3. Espectroscopía NMR del ácido ricinoleico

3.3.1.4. Cromatografía

La cromatografía (en sus múltiples variantes) no constituye por sí misma un método de determinación estructural si no es acompañada por la co-cromatografía junto a estándares en diversas condiciones cromatográficas, o acoplada a una técnica espectroscópica. La más popular es la Espectrometría de Masas (MS), pero existen también interfaces que la acoplan a FT-IR, o a UV-arreglo de diodos. Su desarrollo ha posibilitado la detección y separación de nuevos compuestos, que antiguamente no habían sido detectados.

3.3.1.4.1. Cromatografía en capa delgada y en columna

Las cromatografías en capa delgada (TLC) y en columna, empleando gel de sílice como fase estacionaria, son las principales metodologías para separar mezclas de lípidos en forma preparativa.

En particular para los compuestos insaturados, la adición de AgNO_3 a la sílice aumenta significativamente el poder resolutivo permitiendo la resolución de isómeros geométricos y de posición. Se basa en la formación de complejos de transferencia de carga entre el ion plata y la olefina. El sistema π actúa como donador y el ion plata como aceptor. En la formación del enlace tipo π intervienen los electrones orbitales ocupados de la olefina $2p\pi^*$ y los orbitales $5s$ y $5p$ de Ag^+ y una contribución débil π aceptor entre los electrones de antienlace $2p\pi^*$ y los orbitales $4d$ del catión Ag^+ .

Por regla general, los compuestos cíclicos y alicíclicos forman complejos más estables que los aromáticos. La estabilidad de estos complejos disminuye con el largo de cadena así como con el número de sustituyentes sobre el doble enlace. Esto se asigna a un efecto estérico, que también se refleja en la mayor estabilidad de los complejos con isómeros *cis* que con isómeros *trans*.

La velocidad de complejación es muy rápida, pero el complejo no es muy estable, estando en equilibrio con la forma libre. Esta característica es la que vuelve particularmente útil al catión Ag^+ para aumentar las posibilidades del proceso de separación cromatográfico.

La cromatografía en fase reversa permite resoluciones muy finas entre compuestos de series homólogas, tanto saturadas como insaturadas.

3.3.1.4.2. Cromatografía gaseosa

La cromatografía gaseosa (GC) es el método de elección para analizar ácidos grasos y es un método oficial de la AOAC. En general es necesaria la derivatización, ya que los ácidos sin derivatizar producen un *tailing* (colas) muy pronunciado cuando se utilizan las fases fijas más comunes (metil- y fenil-siliconas, carbowax). Existen fases especiales para el análisis de ácidos grasos libres (FFAP o metil siliconas tratadas con ácidos inorgánicos -fosfórico-) que evitan el *tailing*. El principal problema de estas columnas es que tienen límites de temperatura máximos relativamente bajos (230°C , contra 300°C de las fases comunes).

En el proceso de derivatización se forman ésteres volátiles, generalmente metílicos. En la práctica se transesterifican los triglicéridos de un aceite empleando BF_3 en metanol (figura 4).

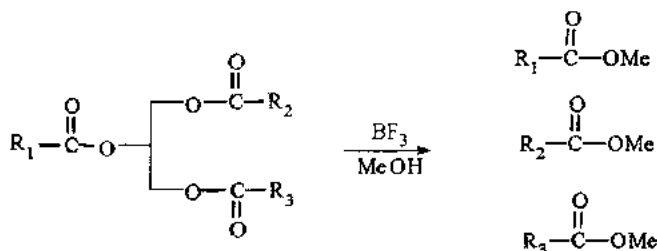


Figura 4. Transesterificación de triglicéridos con BF_3

3.3.1.4.3. Cromatografía líquida de alta presión

Las aplicaciones de la cromatografía líquida de alta presión (HPLC) en el campo de los lípidos no han sido tan extensas, ya que los ácidos grasos no tienen grupos cromóforos en el rango de UV del espectro, y por lo tanto son invisibles para los detectores más comunes. Es posible hacer lecturas a 210 nm empleando mezclas de acetonitrilo-agua como solvente de elución. La preparación de derivados en el caso de ácidos grasos, no ofrece particular ventaja sobre GC. Sin embargo la preparación de derivados benzoiados de glicolípidos sí resulta ventajosa, pues reduce la polaridad de los compuestos y simplifica la resolución.

El empleo de otros detectores, como ser el de índice de refracción (que es un detector universal), no ofrece real ventaja sobre GC, dada su menor sensibilidad. Sólo en caso de detectores de fluorescencia los niveles de detección y sensibilidad son comparables. Para su empleo es necesaria la derivatización, generalmente en antranil-metil ésteres.

El acople HPLC-MS ha abierto una posibilidad de aplicación empleando interfases como el electrospray. Su uso aún no está muy difundido.

En estudios bioquímicos se han empleado trazadores radiactivos. La sensibilidad del método es significativa y puede hacerse luego de colectar fracciones, o detectar en forma continua la radiactividad empleando contadores de centelleo con celdas de flujo.

3.3.1.5. Espectrometría de masas

La espectrometría de masas (MS) es una herramienta invaluable para determinar la estructura de los ácidos grasos. Como generalmente encontramos mezclas de ácidos grasos, se debe primero efectuar la separación por medios cromatográficos, especialmente con GC. Es posible, a través del pico del ion molecular, determinar el número de insaturaciones en una molécula, sin embargo, determinar la posición de los dobles enlaces no es

sencillo. El problema que se presenta en estos casos es la migración de la posición de los dobles enlaces que ocurre al sufrir el bombardeo electrónico en la ionización inicial. Este problema ha sido resuelto mediante el uso de amidas, en particular derivados pirrolidínicos. Se obtiene una fragmentación nítida en grupos de picos que se corresponden con n , $n-1$, $n-2$, etc., átomos de carbono unidos al núcleo pirrolidínico. Cuando se encuentra un doble enlace, estos grupos de iones que diferían originalmente en 14 unidades de masa atómica, difieren ahora en 12.

Otro método empleado ha sido la formación de aductos con dimetil mercaptano, los que dirigen la fragmentación de la molécula sin observarse migraciones.

La transformación del doble enlace empleando halógenos, o la adición de acetato de mercurio y posterior reducción con NaBH_4 , permiten la localización del doble enlace a partir de la fragmentación del grupo metoxilo (figura 5).

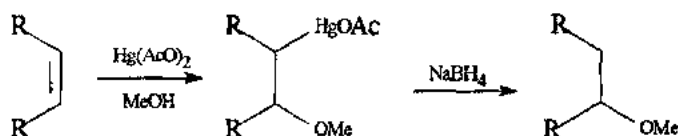


Figura 5. Reacción de localización del doble enlace por metilación

Los β -hidroxi ácidos sufren un rearreglo tipo McLafferty, lo que origina una fragmentación característica. El mismo tipo de rearreglo sufren los compuestos carbonílicos (figura 6).

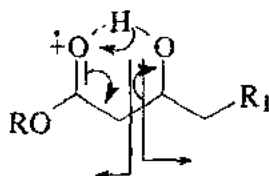


Figura 6. Rearreglo tipo McLafferty de β -hidroxi ácidos

3.3.2. Métodos químicos

Los métodos químicos de determinación estructural actuales se complementan con los métodos espectroscópicos para completar el análisis en forma rápida e inequívoca. Básicamente se intenta determinar la posición de sustituyentes específicos (dobles enlaces, metilos, hidroxilos, cetonas, etc.) a lo largo de la cadena hidrocarbonada.

Dobles enlaces: El problema más comúnmente encontrado es el de determinar posición de dobles enlaces. El enfoque tradicional es oxidar la muestra. Se emplean distintas metodologías (figura 7), por ejemplo ozonizar en forma reductiva u oxidativa el(los) doble(s) enlace(s) presente(s) y luego intentar armar el rompecabezas resultante o bien emplear oxidantes del tipo NaIO_4 - KMnO_4 en forma catalítica (reactivo de Lemieux). En este caso el diol que se forma al adicionarse el MnO_4^- es oxidado por el periodato a los compuestos carbonílicos. El exceso de IO_4^- regenera el permanganato que vuelve a adicionarse.

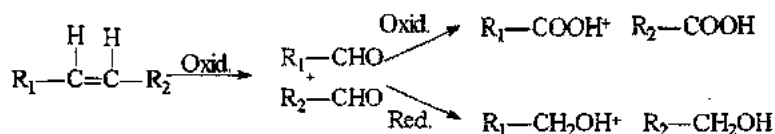


Figura 7. Metodologías de determinación de dobles enlaces

Un método más limpio y con menos posibilidad de generar subproductos de reacción resulta de sustituir el KMnO_4 por el OsO_4 y analizar cromatográficamente la mezcla obtenida (figura 8).

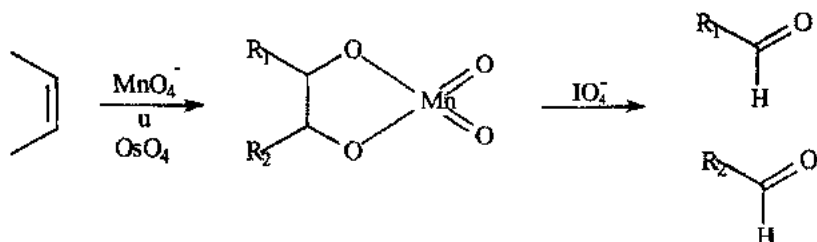
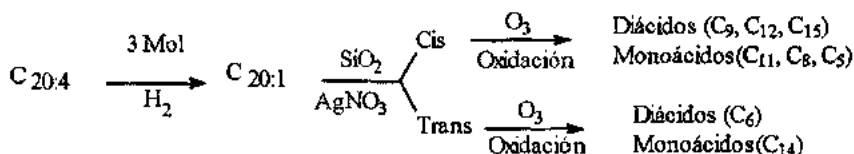


Figura 8. Reacción oxidativa de ácidos grasos

Cuando existe más de un doble enlace, este problema se vuelve complejo, ya que la elucidación de la secuencia de unión de los fragmentos no es obvia.

Estas dificultades han sido solucionadas empleando un sistema de hidrogenaciones parciales que permiten se obtenga una mezcla de ácidos grasos

monosaturados a partir de la "equivalencia química" de los dobles enlaces más allá del C-5 de la cadena hidrocarbonada del ácido (figura 9). Estos ácidos se pueden separar de acuerdo a sus configuraciones *cis* o *trans* empleando TLC sobre sílica gel impregnada con AgNO_3 . La oxidación del doble enlace y el análisis cuantitativo cuidadoso de los productos de degradación permite adjudicar inequívocamente la posición y configuración de los dobles enlaces.



el ácido es el $\text{C}_{20:4}$; 6t; 9c, 12c, 15c

Figura 9. Metodología de localización de dobles enlaces y caracterización configuracional

Un caso particular se presenta cuando el doble enlace se encuentra en una posición cercana al grupo carbonilo u otro grupo funcional. Esto posibilita la participación del grupo vecinal en una reacción intramolecular cuando un electrófilo X^+ intenta adicionarse al doble enlace. Por espectroscopía se detecta fácilmente la formación de una lactona de 5 o 6 miembros, o la formación de éteres tipo furano o pirano (figura 10).

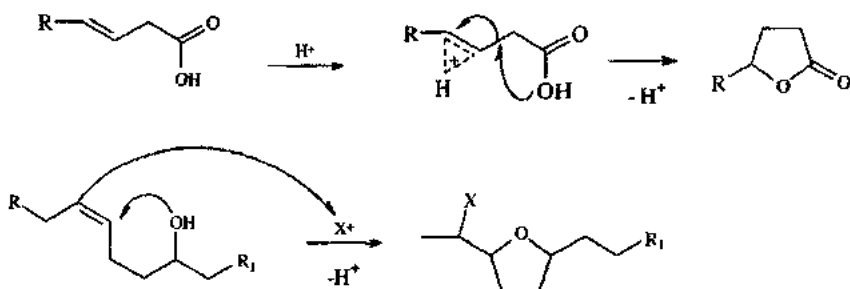


Figura 10. Determinación de doble enlace cercano a grupos funcionales

3.3.3. Determinación de la estructura de triglicéridos.

Determinar la estructura de un triglicérido es de particular importancia en algunas patologías congénitas y en el estudio del cáncer. Esto significa determinar en qué hidroxilo del glicerol se encuentra unido cada ácido graso. Este es un problema complejo dada la reactividad muy similar de los tres posibles ésteres frente a una hidrólisis química. Para esto es que se emplea una combinación de métodos hidrolíticos químicos y enzimáticos.

Básicamente, el esquema es el siguiente (figura 11): la lipasa pancreática porcina (PPL) en condiciones controladas es capaz de hidrolizar exclusivamente ésteres formados por los hidroxilos primarios del glicerol. De esta manera podemos determinar luego cuáles ácidos grasos se encuentran en mayor proporción esterificando la posición C-2 del glicerol (recordemos que las enzimas que sintetizan los triglicéridos no presentan una gran regioespecificidad y lo que encontramos son distintos ácidos esterificando cada posición del glicerol). Esta hidrólisis puede controlarse para que se hidrolice un único ácido graso, obteniéndose una mezcla de diglicéridos.

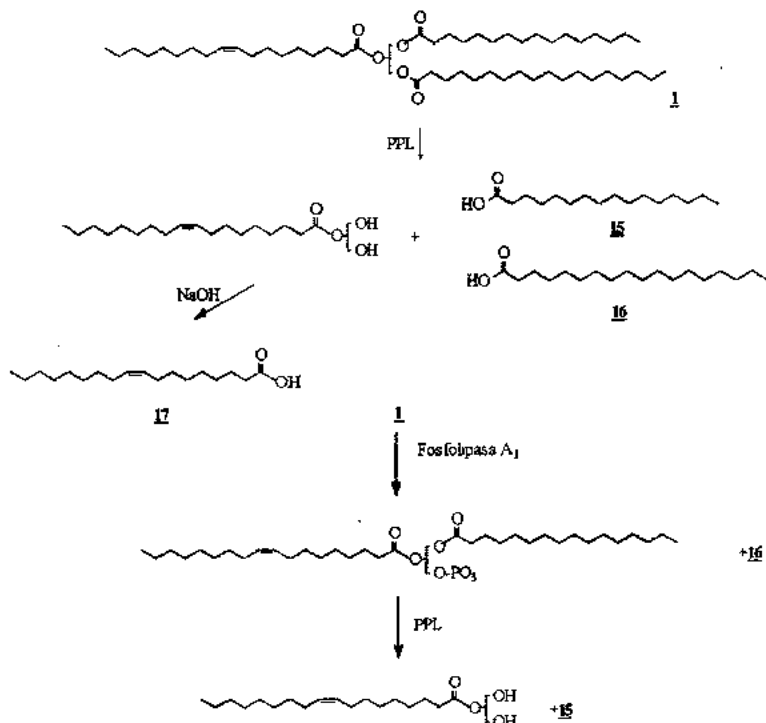


Figura 11. Determinación de estructura de triglicéridos

Luego, para determinar cuales ácidos ocupan las posiciones C-1 y C-3 del glicerol, empleamos una fosfolipasa que fosforila específicamente la posición C-3 del glicerol. Estos grupos de compuestos pueden ser fácilmente separados y se puede repetir el análisis anterior para completar el estudio.

4. ANÁLISIS INDUSTRIAL DE LÍPIDOS

Las determinaciones de lípidos que se realizan industrialmente tienen un fuerte componente tradicional proveniente del siglo XIX, época en la que los aspectos instrumentales del análisis no se habían desarrollado. Son métodos simples y de bajo costo, lo que unido a su antigüedad y a una extensísima documentación acumulada, los convierte en universales. Estas determinaciones son la base de transacciones comerciales y aportan datos que permiten definir con precisión las características fisicoquímicas del producto comercializado. Estas son las razones por las que han perdurado hasta nuestros días métodos tan antiguos.

Muchos de los índices que se mencionarán a continuación tienen como finalidad medir una característica fisicoquímica importante para el proceso industrial en el que se van a emplear la grasa o el aceite. Los índices resultan muchas veces de una suma muy compleja de diversos factores, la mayoría imposibles de evaluar solo a partir del conocimiento de la composición química exacta.

4.1. Antecedentes. Métodos de obtención de grasas y aceites

Los distintos métodos de extracción de grasas y aceites se basan en su insolubilidad en agua y su solubilidad en solventes orgánicos.

Los aceites de semillas se obtienen generalmente por expresión. Esta expresión (prensado) se realiza primero en frío (primera expresión), seguido de una expresión en caliente (segunda expresión). La "torta" resultante se extrae finalmente con hexano en torres de extracción a contracorriente. El solvente es eliminado y el aceite se refina a través de procesos de enfriamiento (winterizado), donde se eliminan materiales que solidifican a temperaturas bajas (ceras y triglicéridos saturados), filtración, secado y almacenamiento en condiciones adecuadas (atmósferas de bajo contenido de oxígeno, al abrigo de la luz, en tanques estañados o de acero inoxidable).

Las grasas animales se separan mecánicamente del resto de los tejidos y luego se funden, decantándose el agua y hemoglobina que son origen de rancidez. La parte superior de la grasa fundida se trasvasa a recipientes especiales donde se lava, filtra, solidifica y envasa.

4.2. Índices físicos

4.2.1. Punto de fusión

Es el rango de temperatura a la cual funde un lípido. Esta propiedad es reflejo de la composición química del triglicérido: la presencia de ácidos grasos insaturados deriva en una menor interacción de fuerzas de Van der Waals entre las cadenas hidrocarbonadas, inestabilizando la forma cristalina. En triglicéridos con predominancia de ácidos grasos saturados, estas interacciones son máximas y el cristal es estable, presentándose en forma sólida a temperatura ambiente.

La metodología AOAC mide el punto de fusión de la sustancia problema empleando una mezcla hidro-alcohólica donde es colocado el triglicérido sumergiéndolo en la mitad del líquido. El sistema se agita vigorosamente y se calienta a velocidad constante, y se mide el punto de fusión al formarse una gota perfectamente esférica.

El punto de fusión permite una nueva clasificación de los triglicéridos en grasas y aceites. Los lípidos que son líquidos a temperaturas menores a 27°C son aceites, y los que permanecen sólidos por encima de esa temperatura son grasas.

4.2.2. Título

El título de un aceite o grasa es el punto de solidificación de sus ácidos grasos. Esta temperatura es útil en la caracterización de aceites y grasas, y valiosa en la determinación de dureza de jabones.

El procedimiento consiste en la realización de una curva de enfriamiento. La temperatura a la que se produce la solidificación es el Título.

Los valores de Título típicos para algunos de los aceites comunes, son: maní, 30°C; algodón, 33°C; oliva, 23°C; sésamo, 23°C; té, 14°C.

4.2.3. Índice de refracción

Las diferencias en el índice de refracción en distintas muestras reflejarán la diferente composición química de cada una de ellas. Lamentablemente, la medida no es lo suficientemente sensible como para distinguir entre composiciones químicas cercanas. Sin embargo permite establecer una relación lineal entre el índice de iodo e índice de refracción en aceites y grasas con índices de iodo bajo. Se utiliza el refractómetro de Abbe con luz de sodio. Los rangos de temperatura a los cuales realizar el análisis ya están definidos (tabla 2):

TABLA 2
Rangos de temperatura para el análisis por índice de refracción

Temperatura	Producto
20°C	Aceites
40°C	Grasas sólidas
60°C	Grasas hidrogenadas
80°C	Ceras

4.2.4. Densidad

La densidad no es un índice particularmente importante, ya que todos los ácidos grasos y aceites comunes del mercado tienen una densidad menor que 1. Además, la densidad aparente es 0,0018 g/cm³, menor que la relativa. Sin embargo, cuando la muestra se ha deteriorado se producen cambios detectables mediante este parámetro.

4.2.5. Dilatometría

La dilatometría es particularmente importante para las industrias chocolatera y jabonera. En este índice se miden los cambios de volumen que se producen al solidificar una grasa o aceite de una manera determinada. Se explica por el polimorfismo que pueden adoptar los cristales de los triglicéridos, que puede ser dirigido por el proceso de enfriamiento de la grasa fundida. Por ejemplo, una adecuada contracción de volumen permite un fácil desmolde de los jabones una vez fabricados, dejándolos prontos para envasar.

El instrumento con el que se mide es un picnómetro colocado en un baño de agua que se enfría lentamente. Los cambios de volumen que se producen se miden en el capilar de la tapa del picnómetro.

4.2.6. Solubilidad

Los triglicéridos son solubles en hexano y solventes apolares e insolubles en alcohol y mezclas hidroalcohólicas. Esta propiedad permite un ensayo rápido de aceite de ricino, que es insoluble en hexano y soluble en etanol al 70 %. Esto es debido a la presencia en su composición de un alto porcentaje de un hidroxíácido, el ricinoleico.

4.2.7. Color

El color permite una buena estimación del estado de conservación (rancidez) de un triglicérido. El método estándar se basa en la comparación de dos campos visuales en un colorímetro. Por un lado se compara el color de

la muestra líquida, y por otro el color generado por un sistema de vidrios coloreados que se agregan hasta igualar ambos campos. Los instrumentos oficiales son el tintómetro Lovibond y el colorímetro de Wesson.

4.2.8. *Flash point*

Es la temperatura a la cual los gases que se desprenden al calentar una grasa forman una mezcla combustible con el oxígeno del aire.

4.2.9. *Fire point*

Es la temperatura a la cual se mantiene una llama en la superficie del aceite caliente.

Estos dos índices son una evaluación de la calidad del proceso de extracción, pues cuando no se elimina adecuadamente el solvente de extracción, son mucho más bajos.

4.3. Índices químicos

4.3.1. *Índice de saponificación (IS)*

Es el número de mg de KOH requeridos para neutralizar los ácidos grasos libres y los resultantes de la hidrólisis completa de 1 g de muestra.

Este índice es útil para determinar el peso molecular promedio de los ácidos grasos que forman un triglicérido. Al acotarse la cantidad de masa que se emplea en el análisis, las diferencias en el peso equivalente que son debidas a diferencias en el peso molecular de los ácidos grasos implicarán gastos diferenciales de potasa. Por lo general, los aceites comestibles poseen un índice de saponificación relativamente similar. Sin embargo, es muy útil para la identificación de aceite de coco y de mantequilla, que tienen ácidos grasos de menor peso molecular y por lo que cualquier adulteración es fácilmente detectada.

El procedimiento consiste en reflujar por una hora el triglicérido con un exceso de KOH 0,1N, que luego se retrovalora con HCl.

4.3.2. *Índice de acidez (IA)*

Son los mg de KOH necesarios para neutralizar los ácidos libres de 1 g de aceite.

Este es un índice de la calidad del aceite, que en general no sobrepasa un 5% del total del índice de saponificación. Índices de acidez elevada se relacionan con la llamada rancidez biológica, en la cual los triglicéridos se han hidrolizado por la presencia de enzimas, generalmente porque el aceite se ob-

tuvo de semillas atacadas por hongos. Las semillas, como respuesta al ataque, liberan ácidos grasos que poseen una marcada acción fungistática.

4.3.3. Índice de Ester (IE)

Este índice se define como los mg de KOH que se gastaron para hidrolizar exclusivamente los ésteres del triglicérido.

$$IE = IS - IA$$

Nótese que para un aceite de buena calidad

$$IE = IS$$

4.3.4. Índice de acetilo (Iac)

Es el número de mg de KOH necesarios para neutralizar el ácido acético capaz de combinarse por acetilación con 1g del aceite o grasa. Se emplea para determinar mono y diglicéridos, y para analizar aceites con elevado porcentaje de hidroxiácidos, como el aceite de ricino.

El procedimiento consiste en determinar los índices de saponificación de la grasa acetilada (ISacet) y sin acetilar (IS):

$$Iac = ISacet - IS$$

4.3.5. Índice de ácidos volátiles

Este índice se emplea para evaluar la acidez volátil, esto es, los ácidos grasos destilables por arrastre con vapor de agua. Se determina así la presencia de ácidos grasos de rango C4 a C12 de largo de cadena. Es de interés el índice de acidez butírica, que aprovecha la insolubilidad del butirato de plata y lo evalúa gravimétricamente. La acidez fija se mide a partir de la valoración del resto de la destilación anterior. En ella se determinan los ácidos grasos de largo de cadena C12 a C20.

4.3.6. Materia insaponificable

Es aquel material presente en aceites y grasas que, después de la saponificación del aceite o la grasa y extracción con un solvente orgánico apropiado, permanece sin volatilizarse al secar a 80°C.

Es particularmente útil para aquellos aceites ricos en vitaminas hidrosolubles u otros lípidos de valor comercial (caso del escualeno en el aceite de hígado de tiburón). En las ceras es importante porque generalmente representa un porcentaje elevado en peso de las mismas.

Éste es uno de los índices que se emplean como “análisis de entrada” de toda materia prima en lo que se llama MIU (*Moisture, Insolubles or Impurities & Unsaponifiables* - Humedad, Insolubles o Impurezas & Insaponificable).

4.3.7. Índice de Iodo ($I I_2$)

Es el peso de iodo absorbido por cien partes en peso de la muestra. Es una medida del nivel de insaturación de los ácidos grasos y permite una nueva clasificación de los aceites, en aceites no secantes, semisecantes o secantes (tabla 3).

TABLA 3
Clasificación de los aceites según el índice de iodo ($I I_2$)

Aceites	$I I_2$	Materia Prima	Principales ácidos
no secantes	<110	grasa y aceite de oliva	saturados y oleico
semisecantes	<110-135	girasol, soja	oleico y linoleico
secantes	>135	aceite de lino	linolénico

Métodos de determinación de índice de Iodo

$X I^+$

Método de WIJS

donde X^- es cloro.

Método de HANUS

donde X^- es bromo

Los métodos se basan en el hecho de que si bien el I_2 no se adiciona cuantitativamente a los dobles enlaces, sí lo hacen los halógenos de I^+ . El iodonio actúa como electrófilo y el exceso de éste es luego convertido a I_2 por agregado de yoduro de potasio. El I_2 se valora con tiosulfato de sodio.

4.3.8. Rancidez

Por rancidez se entiende el fenómeno de alteración de los lípidos con el transcurrir del tiempo, por cualquier medio, sea biótico o abiótico.

4.3.8.1. Índice de peróxidos

Son los mg de I_2 que se forman al agregar KI a una muestra de grasa o aceite en ácido acético. Este índice evalúa la presencia de material peroxídico en la muestra y es una medida de la rancidez peroxídica.

4.3.8.2. Índice de ácido tiobarbitúrico (TBA)

El ácido tiobarbitúrico es un muy buen aceptor del aldehído malónico que se produce en el proceso de descomposición de los ácidos grasos poliinsaturados por peróxidos. Se produce una coloración que se mide espectrofotométricamente.

4.3.8.3. Rancidez ácida

Es la rancidez producida en una grasa o aceite cuando aumenta su acidez, generalmente por la hidrólisis de triglicéridos y la liberación de los ácidos grasos. Este tipo de rancidez puede deberse a la acción de microorganismos o una defectuosa inactivación de enzimas hidrolíticas.

4.3.8.4. Rancidez biológica

Es el caso de deterioro causado por enzimas hidrolíticas o por contaminantes biológicos. El caso más conocido es el de las micotoxinas de *Aspergillus flavus*, con generación de aflatoxinas.

4.3.8.5. Rancidez peroxídica

Es el tipo de rancidez más importante y que provoca mayores alteraciones en las propiedades químicas, físicas y nutricionales de los lípidos.

Los lípidos son susceptibles de ataque por el oxígeno del aire en una reacción radicalaria que tiene como participante al O_2 en el estado de singulete. El oxígeno en su estado no excitado posee un triplete electrónico. Puede promover fácilmente un electrón a un nivel de energía superior y colocar el par

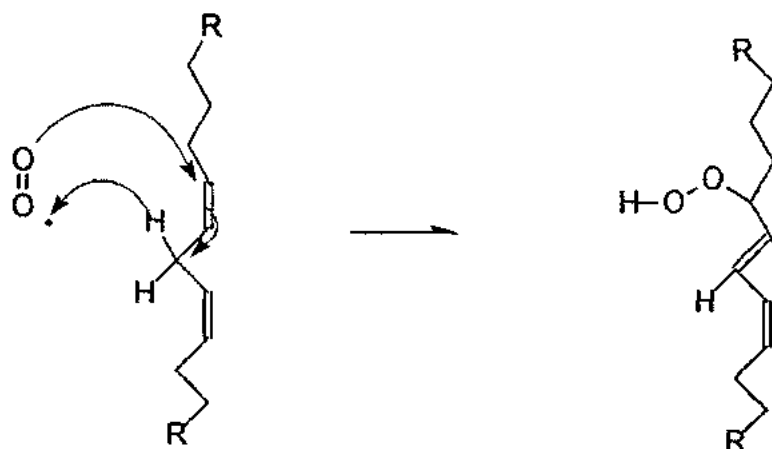


Figura 12. Oxidación de ácidos grasos insaturados con sistema malónico

electrónico resultante en un nivel de energía inferior. El electrón desapareado así promovido, es sumamente reactivo y origina una reacción en cadena.

Los ácidos grasos insaturados que tienen un sistema malónico (linoleico y linolénico), son más reactivos al ser doblemente alílicos. La reacción de adición de oxígeno transcurre por un mecanismo de cicloadición tipo “ene” o reacción de Alder (figura 12).

El radical así formado continúa reaccionando dando una serie de productos de descomposición, entre los que se cuentan ácidos grasos de cadena corta y aldehídos que confieren el particular olor al “lípidio rancio”. La viscosidad del aceite aumenta al producirse reacciones de polimerización (entrecruzamiento) entre las cadenas hidrocarbonadas.

El proceso puede iniciarse por calor, por la acción de cationes metálicos, o por la luz que suministra la energía suficiente para promover el electrón al nivel excitado.

Este proceso existe también en la naturaleza.

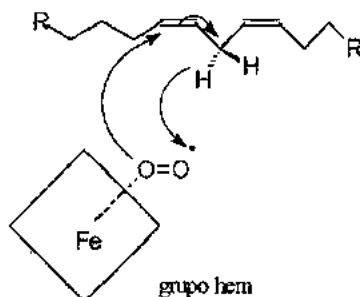
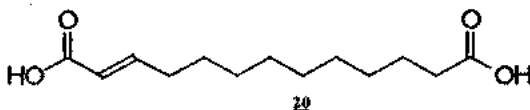


Figura 13. Mecanismo de catálisis por lipooxigenasa

Las lipooxigenasas son las enzimas responsables de la degradación oxidativa de ácidos grasos insaturados en los tejidos vegetales y animales (figura 13). Estas proteínas muestran una gran estereoespecificidad en la generación de hidroperóxidos y productos de descomposición (aldehídos, ácidos de cadena corta, etc.), incluso en la generación del ácido traumático. Cuando el ácido linoleico entra en contacto con las lipooxigenasas se forma el ácido traumático 20, que funciona como mensajero e induce el crecimiento de las células que circundan la herida para cubrir la zona lesionada.



4.3.8.6. Antioxidantes

Dada la inestabilidad de los aceites ricos en ácidos grasos insaturados frente al oxígeno atmosférico, y para impedir la degradación del producto, es necesario agregar sustancias que puedan interrumpir la cadena peroxídica. Todas estas sustancias poseen una estructura aromática fenólica, que les permite ceder fácilmente el hidrógeno fenólico bajo la forma de $H^{\bullet}$, interrumpiendo la etapa de propagación de la cadena (figura 14). Muchos aceites naturales ya tienen sustancias de este tipo, notablemente el aceite de sésamo (que contiene sesamol 21). Muchos aceites de semillas (de trigo, de maíz) contienen tocoferol (vitamina E 22) que es un ingrediente indispensable de nuestra dieta. Para protección artificial se agregan antioxidantes sintéticos como el BHT 23 y BHA 24.

4.3.9. Composición de ácidos grasos.

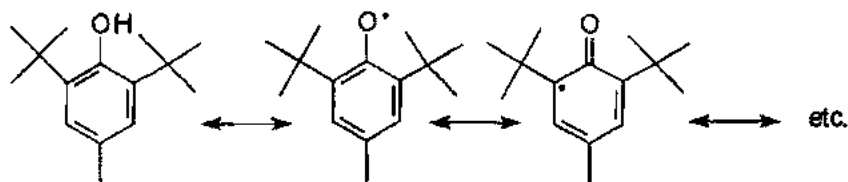
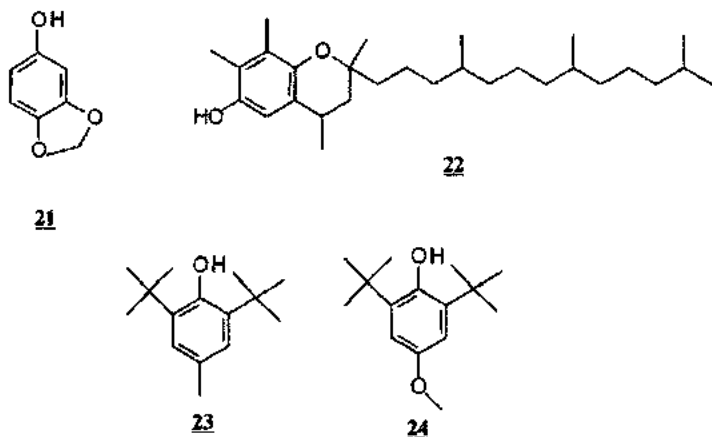


Figura 14. Acción antioxidante del butilhidroxitolueno (BHT)



Es la determinación por cromatografía gaseosa de los ácidos grasos que forman un triglicérido. El método se basa en la transesterificación empleando catálisis ácida (ver 3.3 Determinación de estructura).

5. ACEITES FIJOS

5.1. Aceites vegetales de interés farmacéutico

Aceite de ricino. Es el aceite fijo obtenido de la semilla de *Ricinus communis* L. (Fam. Euphorbiaceae). Este aceite se prepara haciendo pasar las semillas por un mondador formado por rodillos de bordes cortantes que rompen los tegumentos sin lesionar el endospermo, y los separan por medio de tamices y aire comprimido. Luego los cotiledones se exprimen en una prensa. El aceite así obtenido se calienta al vapor para destruir las albúminas, se filtra y se blanquea.

La planta es originaria de la India, y los principales productores actuales son Brasil, India, China, Rusia y Tailandia. Se conocen distintas variedades que crecen como árboles o arbustos. Actualmente se cultivan las variedades menores y mediante mejoras de cultivo se han conseguido plantas de elevado rendimiento en semillas. La recolección mecánica ha sustituido a la manual.

Las semillas de ricino contienen de 45 a 55% de aceite fijo; alrededor de 20% de sustancias proteicas, globulinas, albúminas, nuclealbúminas, glicoproteínas, ricina, una toxoalbúmina, y ricinina, un alcaloide. El bagazo de las semillas de ricino contiene un alérgeno que provoca reacciones alérgicas en individuos hipersensibles.

El aceite de ricino es amarillo pálido prácticamente incoloro, transparente y viscoso, de olor suave y gusto oleoso que finalmente deja un sabor acre y nauseoso. Químicamente es una mezcla de triglicéridos, en su mayoría triricinoleína. Los ácidos principales son ricinoleico (12-(*R*)-hidroxioleico), iso-ricinoleico, esteárico y dehidroxi-esteárico. La presencia del ácido ricinoleico formando el 70 a 80% del total de ácidos grasos le confiere sus particulares propiedades físicas y químicas, como su solubilidad en etanol 70%, el bajísimo punto de fusión, el poder rotatorio, único en el caso de aceites fijos. La acción purgante del aceite se atribuye al ácido ricinoleico y a su estereoisómero que se liberan en el intestino cuando las lipasas del duodeno hidrolizan la triricinoleína.

Usos: El aceite de ricino fue ampliamente usado como purgante, aunque actualmente su uso está restringido al ambiente hospitalario. El aceite es un componente del colodión flexible. El ácido undecilénico que se obtiene del aceite de ricino se utiliza en preparados fungistáticos. Se pueden obtener tensoactivos no iónicos por reacción del aceite con óxido de etileno. También se utilizan en variados usos farmacéuticos.

Los usos industriales superan en la actualidad los relacionados con la salud. Es usado como lubricante en aviones por su muy baja temperatura de congelación, es intermediario de la síntesis del Nylon 66. Del producto de

deshidratación se obtiene un ácido diénico insaturado, útil para la industria de pinturas por su fácil polimerización.

Aceite de lino. Es el aceite fijo que se obtiene mediante la expresión, por lo general en caliente, de la linaza o semilla de lino madura desecada (*Linum usitatissimum* L., Fam. Linaceae).

El nombre genérico deriva del latín *línea* (hebra), debido al uso textil dado a las fibras del lino. La planta se cultiva ampliamente por sus fibras y semillas. Actualmente se produce en Sudamérica, India, EE.UU. y Canadá. Después del algodón no debe existir otra planta con tanta distribución geográfica. Cuando los frutos están completamente maduros, las plantas se levantan con cosechadoras que separan y limpian las semillas en el mismo campo.

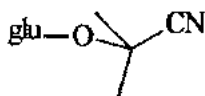
El aceite de lino es un líquido oleoso amarillo, de olor peculiar y sabor desagradable. Expuesto al aire se espesa, se oscurece y adquiere un olor y sabor más pronunciados.

El aceite de lino contiene ácidos linolénico, linoleico y oleico, junto a algunos ácidos saturados como mirístico, esteárico y palmítico.

Usos: El aceite de lino se utiliza en pinturas. Para ello se le hierve con secantes como litargirio o resinato de manganeso que, por formación de sales metálicas, hacen que el aceite seque más rápidamente.

Las semillas de lino enteras se usan para hacer preparados demulcentes y molidas se utilizan para cataplasmas. El aceite se utiliza en linimentos, e investigaciones recientes sugieren un poder antibacteriano cuando se lo utiliza en preparaciones tópicas.

La torta que resulta de la expresión contiene linamarina, un glicósido cianogenético, derivado de la acetona (25).



25

Manteca de cacao. Se obtiene a partir de las semillas de *Theobroma cacao* L. (Fam. Sterculiaceae) por expresión en caliente. Se filtra cuando aún está fundida y se deja enfriar en moldes.

La manteca de cacao se compone de glicéridos de los ácidos esteárico, palmítico, aráquico, oleico y otros, formando triglicéridos y glicéridos mixtos. Posee a pesar de ello, un punto de fusión bien definido (35-38°C).

Puede adulterarse con ceras como la estearina, o con sebos animales o vegetales.

Usos: Se emplea como base para la preparación de supositorios, lápices labiales, etc.

5.2. Aceites comestibles

Aceite de girasol. El girasol, *Helianthus annuus* L. (Fam. Asteraceae), es una de las oleaginosas de climas templados más difundidas. El aceite se obtiene por expresión y extracción con solventes. Posee un elevado porcentaje de ácidos grasos insaturados, fundamentalmente linoleico (60%), oleico (20%) y linolénico (8%) así como saturados (10%). Por ingeniería genética se han desarrollado variedades en las que se ha alterado la composición de ácidos grasos, asemejándola a la del aceite de oliva, con un 70% de ácido oleico.

Aceite de soja. La soja es la semilla de *Glycine max* (L.) Merr. (Fam. Fabaceae). Las semillas contienen hasta 20 % de aceite, compuesto por ácidos poliinsaturados (linolénico, linoleico). En la cera que se separa por enfriado se aíslan fitoesteros, útiles como precursores en la síntesis de hormonas. Es además la fuente principal de lecitina vegetal.

Aceite de colza. El aceite de colza natural, *Brassica napus* L. (Fam. Brassicaceae), contiene un elevado porcentaje de ácido erúico (C22:1 ω9) que es tóxico. Para el consumo humano se han desarrollado variedades de llamadas de "cero erúico". La más extendida es la llamada Canola desarrollada en Canadá. Los ácidos grasos que componen el aceite de canola son linoleico, oleico y palmítico.

Aceite de algodón. Es el aceite fijo y refinado que se obtiene de las semillas de diferentes variedades de *Gossypium hirsutum* L. (Fam. Malvaceae). Luego de eliminar las fibras, se decortican las semillas y liberadas del salvado se someten a 108 atmósferas de presión, logrando extraer un 30% de aceite. El aceite se refina por filtrado, blanqueado y enfriamiento para eliminar la estearina. Es un líquido oleoso, de color amarillo pálido, inodoro y de sabor suave. Químicamente es una mezcla de glicéridos de los ácidos linoleico, oleico, palmítico, mirístico, esteárico y araquidónico. El aceite prensado posee un principio tóxico, el gossipol, que se elimina por tratamiento con álcalis.

Usos: El aceite de algodón se utiliza como vehículo de diferentes inyectables. Hidrogenado se lo utiliza para preparar sustitutos de la grasa de cerdo y fabricar jabones.

Aceite de oliva. Es el aceite fijo obtenido del fruto maduro de *Olea europaea* L. (Fam. Oleaceae). Es un árbol pequeño que no excede los 10 m de

altura, de hojas perennes. Se presume que es originario de Palestina, pero se cultiva en la mayoría de los países mediterráneos desde la antigüedad. Actualmente también se lo cultiva en EEUU (Sudoeste) y en otras regiones subtropicales.

El fruto es una drupa (aceituna), que en su madurez final puede llegar a ser púrpureo. Se conservan en salmuera y se usan como condimentos.

El aceite de oliva se comercializa en varios grados de pureza. El Aceite Virgen se obtiene por expresión suave de la pulpa pelada, libre de endocarpio. Los aceites comestibles de primer y segundo grado se obtienen exprimiendo la pulpa hasta un distinto nivel. Las aceitunas se recogen a mano y el aceite se extrae rápidamente antes de que por descomposición aparezcan ácidos grasos libres. El aceite técnico se obtiene de la pulpa que es mezclada con agua caliente y vuelta a exprimir, o se extrae con sulfuro de carbono. El aceite es un líquido oleoso amarillo o amarillo verdoso, de olor débil pero característico y sabor suave que tiende a volverse acre. Por enfriamiento se enturbia y a 0°C suelen formarse masas granulares blanquecinas.

Su composición química es variable según su origen. Se pueden distinguir dos grandes grupos según las concentraciones relativas de los ácidos que forman los glicéridos. A modo de ejemplo, las variedades turcas son las más comunes y contienen 75% de ácido oleico, 10% de ácido palmítico y 9% de ácido linoleico con menores cantidades de ácidos esteárico, mirístico, hexadecanoico y araquídico. Las variedades italianas poseen 65% de oleico, 15% de palmítico y 15% de linoleico.

Usos: Tiene amplias propiedades nutritivas y su mayor uso es como aderezo de ensaladas. Se utiliza para retardar el fraguado de cementos dentales y para la preparación de jabones, emplastos y linimentos. Es además laxante suave.

Aceite de maní. Es el aceite que se obtiene de las semillas de *Arachis hypogaea* L. (Fam. Fabaceae). La planta es una hierba anual, pequeña, originaria de Brasil que actualmente se cultiva en el Sur de EE.UU., Gambia, Nigeria y otras regiones de climas similares. Al estar el fruto maduro se seca al aire, luego se separan y se limpian las semillas. Para utilizarlos directamente en nutrición humana los frutos se tuestan y se pasan por cilindros para separar las semillas. El mayor porcentaje de aceite fijo se encuentra en el embrión. El aceite de maní es un líquido incoloro o amarillento, con un leve olor a nuez. Está compuesto por una mezcla de glicéridos cuyos principales ácidos son el oleico, linoleico, palmítico, esteárico, araquídico y behénico.

Usos: Principalmente se utiliza como aceite comestible, también con disolvente para inyectables intramusculares, y como lubricante. La torta de expresión es muy utilizada como alimento para ganado.

Aceite de coco. Es el aceite fijo que obtenido por expresión o extracción de las semillas de *Cocos nucifera* L. (Fam. Arecaceae). El cocotero crece en las regiones costeras de todos los países tropicales, alcanza una altura de alrededor de 20 m. Presenta un penacho foliar terminal donde se desarrollan los frutos, que pueden pesar más de 1 Kg cada uno. El aceite es un líquido incoloro o amarillo tenue, que a 20°C se vuelve semisólido y a menos de 15°C forma un sólido quebradizo. Si no contiene ácidos grasos libres es inodoro e insípido. Está compuesto por una mezcla de glicéridos cuyos ácidos grasos mayoritarios son el láurico, mirístico, palmítico, caprílico, cáprico, esteárico y oleico. Debido a la presencia de los ácidos de cadena hidrocarbonada más corta en forma libre, el aceite puede tener olor desagradable.

En la región de la Cuenca del Río de la Plata, se comercializa también el “aceite de coco paraguayo”, que es producido de los frutos de otras especies de *Palmae* (Arecaceae). Contiene un porcentaje elevado de ácido oleico en relación al aceite obtenido de *C. nucifera*.

Usos: Fundamentalmente en mezclas para comestibles, en cosméticos, jabones. Es una importantísima materia prima en la preparación de detergentes. En la industria farmacéutica como base para ungüentos.

6. CERAS

6.1. Generalidades

Por “ceras” se conocen una serie de productos aislados de fuentes naturales que, dada su similitud (textura, punto de fusión) con la cera de abejas, han sido utilizados por el Hombre desde tiempos remotos.

Desde el punto de vista químico, las ceras son mezclas complejas de compuestos lipofílicos de peso molecular intermedio (200-700 unidades de masa atómica). En estas mezclas se destacan familias de compuestos como los ésteres céreos formados por ácidos y alcoholes grasos de elevado peso molecular. También están presentes alcoholes y ácidos libres, cetonas, aldehídos, hidrocarburos, todos de cadena larga, pero rara vez triglicéridos. Las ceras forman una delgada capa que se distribuye sobre la superficie de los seres vivos de hábitat terrestre. Dada su lipofilia, sirven de barrera primaria para evitar la desecación por evaporación del agua contenida dentro del ser vivo. En el caso de los seres de hábitats marinos, desde las ballenas al plancton, existen ceras internas, fundamentalmente ésteres céreos de 46 átomos de carbono. Su rol fisiológico es de reserva energética y, dada su densidad específica (menor que la de los triglicéridos comunes), como factor de flotación.

6.2. Índices industriales

Como característica general las ceras presentan puntos de fusión superiores a los 50°C y una alta plasticidad.

Los índices químicos que se emplean en el caso de grasas y aceites son aplicables a las ceras, pero es de destacar que el índice de insaponificable es en general considerablemente mayor, y los índices de saponificación y éster son menores. El índice de acetilo cobra relativa importancia, según la cera que se considere.

Una determinación exacta de la composición de una cera solo se logra través del empleo de técnicas cromatográficas acopladas a métodos espectroscópicos.

En general el GC ha permitido el análisis de la mayoría de las fracciones de las ceras, debiendo emplearse elevadas temperaturas de columna para determinar la composición de ésteres céreos intactos. Los ácidos grasos deben derivatizarse como metil ésteres y los alcoholes en general pueden analizarse libres o bajo forma de acetatos o trimetil-silil ésteres.

6.3. Ceras vegetales de uso industrial y farmacéutico

Cera carnauba. Se obtiene de las hojas de la palmera *Copernicia cerifera* Mart. (Fam. Arecaceae), sacudiéndolas para que caiga libre. Se la purifica luego para eliminar las materias extrañas. Es una cera dura, color marrón claro a amarillo pálido, y se vende como un polvo grueso, en escamas o fragmentos irregulares. Por lo general es insípida y tiene un ligero olor característico no rancio. Esta compuesta por ésteres, principalmente acetato de miricilo, junto con algunos alcoholes libres y otros componentes menores.

Índice de ácido bajo. Índice de saponificación, 75 a 95; índice de iodo, 7 a 14.

Usos: recubrimiento de grageas, manufactura de velas y abrillantadores de calzado.

7. BIBLIOGRAFÍA Y LECTURAS RECOMENDADAS

La bibliografía del tema es extremadamente extensa, y cubre desde técnicas de laboratorio completamente estandarizadas hasta los fundamentos moleculares de la biología de los compuestos derivados de los lípidos. Hemos incluido referencias generales que por lo general abarcan más de un aspecto del temario. Hemos agregado como lectura recomendada una dirección de FAO que aparece en la Internet. En ella aparecen los datos descriptivos de muchas de las plantas oleaginosas. Creemos que como un volumen creciente (en cantidad y calidad) de información está apareciendo de esta manera, es útil que los lectores comiencen a familiarizarse con ella.

- AOCS. *Official methods and recommended practices*. Champaign, 1992.
- BAILEY'S Industrial Oil and Fat Products. 4.ed. New York: Wiley, 1964.
- BENEDETTO, C.; MCDONALD GIBSON, R.G.; NIGAN, S.; SLATER, T.F. *Prostaglandins and related substances*. Oxford: IRL, 1987.
- CHRISTIE, W.W. (ed.). *Advances on lipid methodology*. London: Oily, 1991. v.1.
- CHRISTIE, W.W. (ed.). *Advances on lipid methodology*. London: Oily, 1992. v.2.
- CHRISTIE, W.W. (ed.). *Advances on lipid methodology*. London: Oily, 1993.
- CHRISTIE, W.W. *Gas chromatography and lipids*. London: Oily, 1989.
- CHRISTIE, W.W. *HPLC and lipids*. New York: Pergamon, 1987.
- COSTA, A.F. *Farmacognosia*. 5.ed. Lisboa: Gulbenkian, 1994.
- EVANS, W.C. *Farmacognosia de Trease & Evans*. 13.ed. México: Interamericana, 1991.
- FAO (Food and Agriculture Organization) <http://pppis.fao.org>
- GAILLIARD, T.; MERCER, E.I. *Recent advances in the chemistry and biochemistry of plant lipids*. New York: Academic, 1975.
- GOLD, V.; LOENING, K.L.; MCNAUGHT, A.D.; SEHMI, P. *Compendium of chemical terminology. IUPAC recommendations*. Cambridge: Blackwell, 1987.
- GRAYSON, M. (ed.). *Kirk-Othmer encyclopedia of chemical technology*. 3.ed. New York: Wiley, 1984.
- GUNSTONE, F.; HARWOOD, J.L.; PALEY, F.B. *The lipid handbook*. London: Chapman and Hall, 1994.
- GUNSTONE, F.D.; HERSLÖF, B.G. *A lipid glossary*. London: Oily, 1992.
- GUNSTONE, F.D. *An introduction to the chemistry and biochemistry of fatty acids and their glycerides*. 2.ed. London: Chapman and Hall, 1967.
- GUNSTONE, F. *Chem. Phys. Lipids*, v.65, p.155-163, 1993.
- HUANG, M. T.; OSAWA, T.; HO, C.T.; ROSEN, R. *Food phytochemicals for cancer prevention*. ACS Symposium, 546. Washington: American Chemical Society, 1994.
- JOHNSTON, P.V. *Basic lipid methodology*. Illinois: College of Agriculture, Univ. Illinois. January 1971. Special publication.
- KATES, M. *Techniques in lipidology*. Amsterdam: Elsevier, 1986.
- KOLATTUKUDY, P.E. (ed.). *Chemistry and biochemistry of natural waxes*. Amsterdam: Elsevier, 1976.
- LEHNINGER, A.L.; NELSON, D.L.; COX, M.M. *Principles of biochemistry*. 2.ed. New York: Worth, 1993.
- LEWIS, R.J. *Food Additives Handbook*. New York: Van Nostrand, 1989.
- LORENZI, H.; MOREIRA DE SOUZA, H.; MEDEIROS COSTA, J.T.; COELHO DE CÉRQUEIRA, L.S.; von BEHR, N. *Palmeiras do Brasil. Plantarum*, Nova Odessa, 1996.
- OFFICIAL Methods of analysis of AOAC international. 16.ed. Gaithersburg: AOAC, 1998.
- RAMSTAD, E. *Modern pharmacognosy*. New York: McGraw-Hill, 1959.
- STANDARD Methods for the Analysis of Oils and Fats. IUPAC. London: Butterworth, 1963.
- STREYER, L. *Bioquímica*. México: Reverté, 1995.
- TYLER, V.E.; BRADY, L.R.; ROBBERS, J.E. *Farmacognosia*. Buenos Aires: Ate-neo, 1980.
- UNITED States Pharmacopoeia. 23.ed. Washington: USP, 1995.

AGRADECIMIENTOS

Los autores desean agradecer la ayuda técnica de los Qs.Fs. Verónica Cesio y Leonel Ferrando, y al Bach. Gabriel González en la preparación del manuscrito.

ÓLEOS VOLÁTEIS

AUTORES

Cláudia Maria Oliveira Simões
Volker Spitzer

SUMÁRIO DO CAPÍTULO

1. Introdução
2. Classificação química e biogênese
3. Quimiotaxonomia, localização e funções
4. Fatores de variabilidade
5. Extração, tratamento e conservação
6. Avaliação da qualidade de matérias-primas vegetais ricas em óleos voláteis e de óleos voláteis
7. Importância econômica
8. Dados farmacológicos
9. Dados toxicológicos
10. Drogas vegetais clássicas
11. Referências bibliográficas
12. Sugestões para leitura

1. INTRODUÇÃO

A ISO (International Standard Organization) define óleos voláteis como os produtos obtidos de partes de plantas através de destilação por arraste com vapor d'água, bem como os produtos obtidos por expressão dos pericarpos de frutos cítricos (Rutaceae). De forma geral, são misturas complexas de substâncias voláteis, lipofílicas, geralmente odoríferas e líquidas. Também podem ser chamadas de óleos essenciais, óleos etéreos ou essências. Essas denominações derivam de algumas de suas características físico-químicas, como por exemplo a de serem geralmente líquidos de aparência oleosa à temperatura ambiente, advindo, daí, a designação de *óleo*. Entretanto, sua principal característica é a volatilidade, diferenciando-se, assim, dos óleos fixos, mistura de substâncias lipídicas, obtidos geralmente de sementes. Outra característica importante é o aroma agradável e intenso da maioria dos óleos voláteis, sendo, por isso, também chamados de essências. Eles também são solúveis em solventes orgânicos apolares, como éter, recebendo, por isso, a denominação de óleos etéreos ou, em latim, *aetheroleum*. Em água, os óleos voláteis apresentam solubilidade limitada, mas suficiente para aromatizar as soluções aquosas, que são denominadas hidrolatos.

Outras de suas características são:

- sabor: geralmente acre (ácido) e picante;
- cor: quando recentemente extraídos são geralmente incolores ou li-

geiramente amarelados; são poucos os óleos que apresentam cor, como o óleo volátil de camomila, de coloração azulada, pelo seu alto teor em azulenos;

- estabilidade: em geral, os óleos voláteis não são muito estáveis, principalmente na presença de ar, luz, calor, umidade e metais;

- a maioria dos óleos voláteis possui índice de refração e são opticamente ativos, propriedades estas usadas na sua identificação e controle da qualidade.

Seus constituintes variam desde hidrocarbonetos terpênicos, álcoois simples e terpênicos, aldeídos, cetonas, fenóis, ésteres, éteres, óxidos, peróxidos, furanos, ácidos orgânicos, lactonas, cumarinas, até compostos com enxofre. Na mistura, tais compostos apresentam-se em diferentes concentrações; normalmente, um deles é o composto majoritário, existindo outros em menores teores e alguns em baixíssimas quantidades (traços). Por exemplo, o 1,8-cineol (ou eucaliptol) é o principal composto do óleo de eucalipto e, geralmente, seu teor é em torno de 80%; entretanto, esta mesma substância foi detectada no óleo de bergamota numa concentração 40.000 vezes menor do que no óleo de eucalipto, ou seja, em torno de 0,002%. Assim, nesses casos, diz-se que este composto é um constituinte-traço do óleo de bergamota.

Além dos óleos voláteis obtidos de plantas (fitogênicos), produtos sintéticos são encontrados no mercado. Esses óleos sintéticos podem ser imitações dos naturais ou composições de fantasia. Para o uso farmacêutico, somente os naturais são permitidos pelas farmacopéias. Exceções são aqueles óleos que contêm somente uma substância, como o óleo volátil de baunilha (que contém vanilina). Nesses casos, algumas farmacopéias permitem também os equivalentes sintéticos.

2. CLASSIFICAÇÃO QUÍMICA E BIOGÊNESE

Quimicamente, a grande maioria dos óleos voláteis é constituída de derivados fenilpropanóides ou de terpenóides, sendo que esses últimos preponderam.

2.1. Fenilpropanóides

Os fenilpropanóides se formam a partir do ácido chiquímico **1**, que forma as unidades básicas dos ácidos cinâmico **2** e *p*-cumárico **3** (ver capítulo "Metabolismo básico e origem dos metabólitos secundários"). Esses últimos, por meio de reduções enzimáticas produzem propenilbenzenos **4** e/ou alilbenzenos **6** e, por meio de oxidações com degradação das cadeias laterais, geram aldeídos aromáticos **5**; ciclizações enzimáticas intramoleculares produzem cumarinas **7** (figura 1).

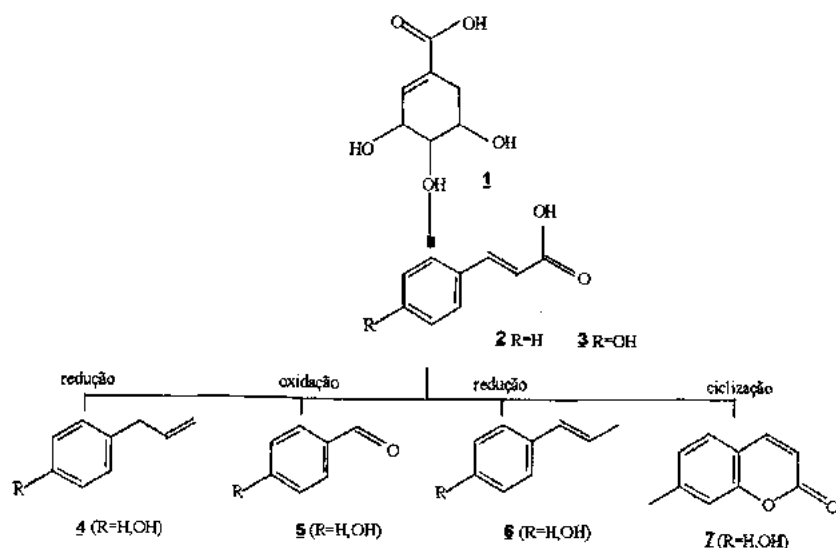


Figura 1. Formação de compostos fenilpropanóides

2.2. Terpenóides

Os terpenóides constituem uma grande variedade de substâncias vegetais, sendo que esse termo é empregado para designar todas as substâncias cuja origem biossintética deriva de unidades do isopreno **9**. A unidade isoprênica, por sua vez, origina-se a partir do ácido mevalônico **8** (ver capítulo "Metabolismo básico e origem dos metabólitos secundários"). Os esqueletos carbonados dos terpenóides (tabela 1) são formados pela condensação de um número variável de unidades pentacarbonadas (= unidades isoprênicas), de acordo com a regra do isopreno (ver, por exemplo, Mann, 1987 e Breitmaier, 1999). Nos componentes de óleos voláteis predomina a condensação cabeça-cauda, como ilustra a figura 2.

Os compostos terpênicos mais frequentes nos óleos voláteis são os monoterpênicos (cerca de 90 % dos óleos voláteis) e os sesquiterpenos. Outros terpenóides, como os diterpenos, são encontrados apenas em óleos voláteis extraídos com solventes orgânicos (Steinegger e Hansel, 1992). Os monoterpênicos podem, ainda, ser divididos em três subgrupos: acíclicos (mirceno **10**, linalol **11**, geraniol **12**), monocíclicos (alfa-terpineol **13** e terpinoleno **14**) e bicíclicos (alfa-pineno **15**, tujona **16**, cânfora **17**, fenchona **18**). Em cada um desses subgrupos, há ainda outras classificações: hidrocarbonetos insaturados (limoneno **19**), álcoois (mentol **20**), aldeídos ou cetonas (mentona **21**, carvona **22**), lactonas (os monoterpênicos lactônicos são chamados de iridóides, ex. nepetalactona **23**) e tro-

TABELA I
Condensação de unidades de isopreno na formação de terpenóides

Nº de Unid.	Número de átomos de carbono	Nome ou classe
1	5	isopreno
2	10	monoterpenóides
3	15	sesquiterpenóides
4	20	diterpenóides
5	25	sesterpenos
6	30	triterpenóides
8	40	tetraterpenóides
n	n	polisoprenóides

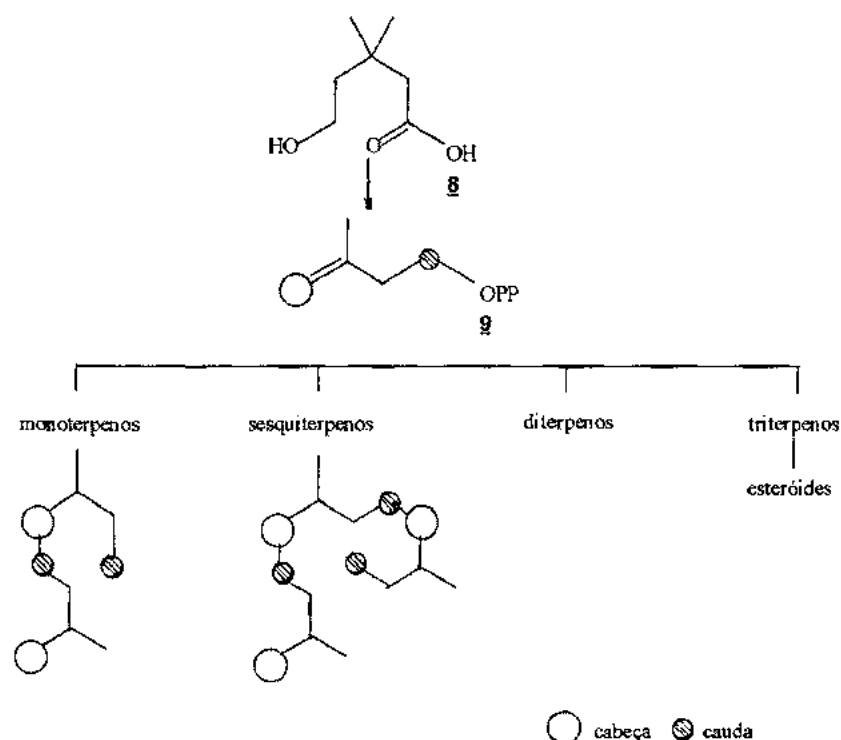


Figura 2. Formação *cabeça-cauda* dos esqueletos carbonados dos compostos mono- e sesquiterpenóides, constituintes majoritários dos óleos voláteis

polonas (gama-tujaplicina 24) (figura 3). As variações estruturais dos sesquiterpenos (figura 4) são da mesma natureza que as precedentes, podendo ser acíclicos (farnesol 25, nerolidol 26), monocíclicos (ácido abscísico 28) ou bicíclicos (gama-bisaboleno 27, beta-selineno 29, cariofileno 30) ou lactonas sesquiterpênicas. Em cada um desses subgrupos, classificam-se inúmeras substân-

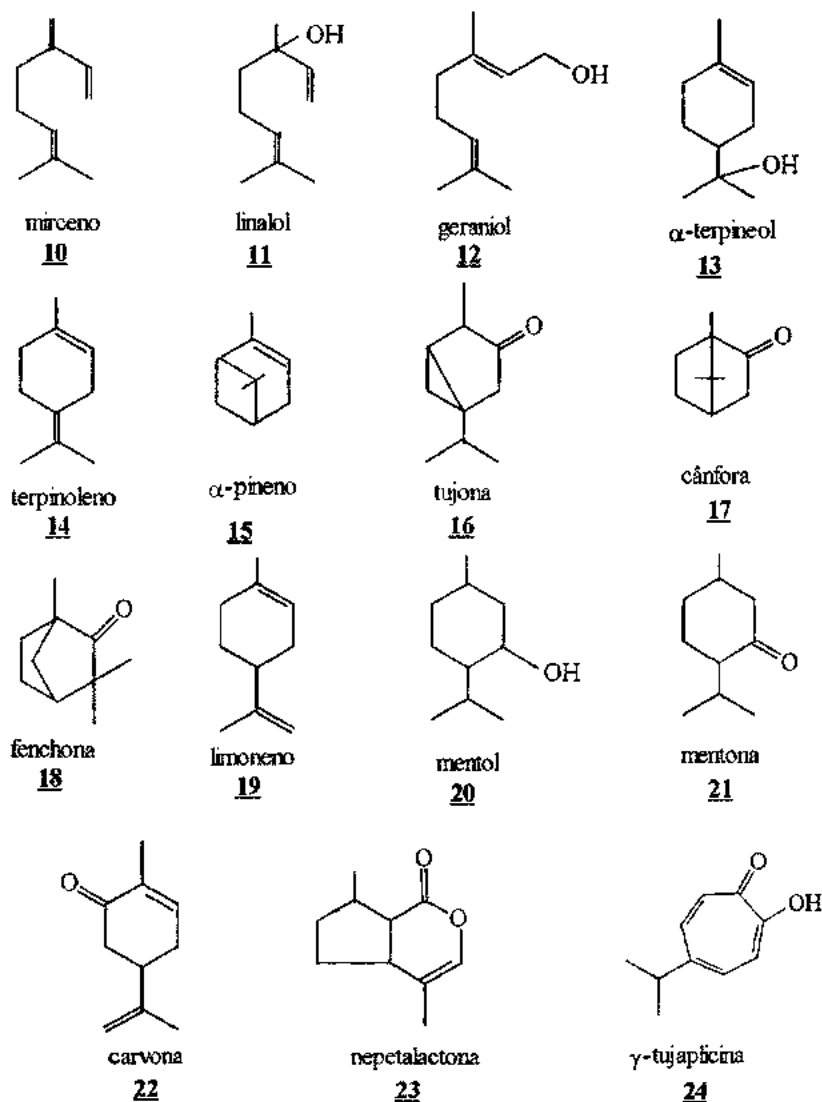


Figura 3. Exemplos de compostos monoterpênicos de ocorrência em óleos voláteis

cias, caracterizadas por cerca de 200 tipos diferentes de esqueletos. O número de compostos terpênicos conhecidos ultrapassa a 8.000 (Breitmaier, 1999); como componentes descritos em óleos voláteis, é estimado um número superior a 150 monoterpenos e 1000 sesquiterpenos (Wagner, 1993).

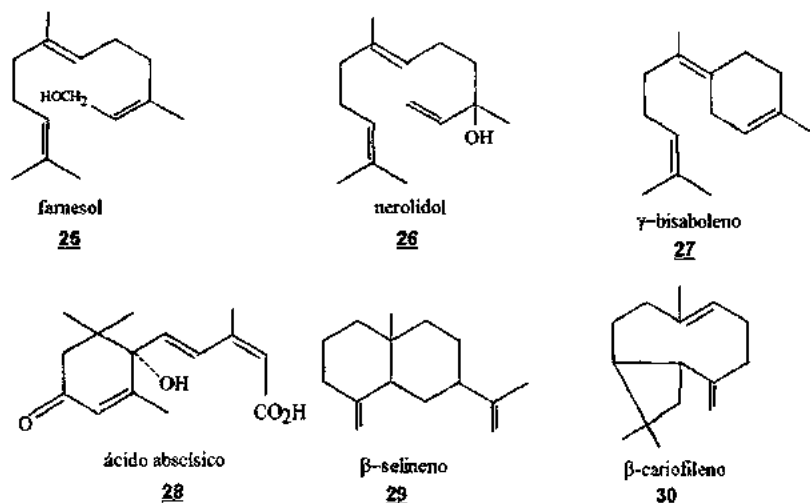


Figura 4. Exemplos de compostos sesquiterpênicos de ocorrência em óleos voláteis

3. QUIMIOTAXONOMIA, LOCALIZAÇÃO E FUNÇÕES

3.1. Quimiotaxonomia

Óleos voláteis são raramente encontrados em gimnospermas (exceção de coníferas). Em angiospermas monocotiledôneas, a ocorrência é relativamente rara, com exceção de gramíneas (especialmente espécies de *Cymbopogon* e *Vetiveria*) e zingiberáceas (espécies de *Alpinia* e *Curcuma*, entre outras) (Hegnauer, 1979). No entanto, plantas ricas em óleos voláteis são abundantes em angiospermas dicotiledôneas, tais como nas famílias Asteraceae, Apiaceae, Lamiaceae, Lauraceae, Myrtaceae, Myristicaceae, Piperaceae, Rutaceae, entre outras (para uma abordagem detalhada ver: Hegnauer, 1962-1990).

3.2. Localização

Dependendo da família, os óleos voláteis podem ocorrer em estruturas secretoras especializadas, tais como em pêlos glandulares (Lamiaceae), célu-

las parenquimáticas diferenciadas (Lauraceae, Piperaceae, Poaceae), canais oleíferos (Apiaceae) ou em bolsas lisígenas ou esquizolisígenas (Pinaceae, Rutaceae). Os óleos voláteis podem estar estocados em certos órgãos, tais como nas flores (laranjeira, bergamoteira), folhas (capim-limão, eucalipto, louro) ou ainda nas cascas dos caules (canelas), madeira (sândalo, pau-rosa), raízes (vetiver), rizomas (cúrcuma, gengibre), frutos (anis-estrelado, funcho, erva-doce) ou sementes (noz-moscada). Embora todos os órgãos de uma planta possam acumular óleos voláteis, sua composição pode variar segundo a localização. Por exemplo, o óleo das cascas da canela é rico em aldeído cinâmico, enquanto que os das folhas e das raízes desse mesmo vegetal são ricos em eugenol e cânfora, respectivamente. Óleos voláteis obtidos de diferentes órgãos de uma mesma planta podem apresentar composição química, caracteres físico-químicos e odores bem distintos. Cabe lembrar que a composição química de um óleo volátil, extraído do mesmo órgão de uma mesma espécie vegetal, pode variar significativamente, de acordo com a época de coleta, condições climáticas e de solo (ver adiante, item 4).

3.3. Funções biológicas

As substâncias odoríferas em plantas foram consideradas por muito tempo como “desperdício fisiológico” (Knobloch et al., 1986), ou mesmo produtos de desintoxicação, como eram vistos os produtos do metabolismo secundário (Mothes, 1980). Atualmente, considera-se a existência de funções ecológicas, especialmente como inibidores da germinação, na proteção contra predadores, na atração de polinizadores, na proteção contra a perda de água e aumento da temperatura, entre outras (Craveiro e Machado, 1986; Harborne, 1993). Assim, o aroma desses óleos voláteis pode estar envolvido na atração de polinizadores. As abelhas e borboletas são insetos freqüentemente atraídos por aromas de diversas flores. Plantas com polinização noturna ou crepuscular possuem aromas particularmente intensos, pois, nesses horários, o estímulo atrativo visual torna-se impraticável (Harborne, 1993). *Cestrum calycinum* Kunth (Solanaceae), conhecida como canema ou dama-da-noite, é polinizada por mariposas, especialmente Esphingidae (Lepidoptera). As espécies de *Datura* e *Brugmansia* (Solanaceae), conhecidas como trombeteira ou dama-da-noite, também apresentam perfume notável à noite e podem atrair morcegos e mariposas. Já as plantas da família Annonaceae, tais como *Rolliinia salicifolia* Schltdt. (araticum), atraem besouros (Coleoptera) e seu odor é notável ao entardecer (Geraldo Ceni Coelho, Departamento de Biologia, UNIJU/RS, comunicação pessoal).

Efeitos alelopáticos têm sido registrados para terpenos voláteis de *Eucalyptus globulus* Labill., *E. camaldulensis* Dehnh. (Myrtaceae), *Artemisia absinthium* L. (Asteraceae) e *Sassafras albidum* (Nutt.) Ness (Lauraceae).

Artemisia californica Less. (Asteraceae) e *Salvia leucophylla* Greene (Lamiaceae), presentes no chaparral californiano, geram um efeito inibitório tão intenso através de seus óleos voláteis, que outras plantas são totalmente inibidas em um raio de 1 a 2 metros, gerando zonas de solo nu em torno dos arbustos (ou grupo de arbustos) dessas espécies. O efeito é evidente em fotografias aéreas. Estudos exaustivos apontaram os terpenos voláteis, tais como 1,8-cineol e cânfora (*Salvia leucophylla* Greene) e α -tujona e isotujona (*Artemisia californica* Less.), entre outros, como responsáveis por esse efeito inibitório (Harborne, 1993).

Existem trabalhos demonstrando que a toxicidade de alguns componentes dos óleos voláteis constitui uma proteção contra predadores e insetos. Mentol e mentona, por exemplo, são inibidores do crescimento de vários tipos de larvas (Kesley et al., 1984). Também existem evidências de que alguns insetos utilizam óleos voláteis seqüestrados de plantas para defenderem-se de seus predadores. Assim, os vapores de certas substâncias como citronelal (utilizado por formigas) e α -pineno (utilizado por cupins) podem causar irritação suficiente em um predador para fazê-lo desistir de um ataque. Certos himenópteros, por exemplo, seqüestram (sem alteração química) α - e β -pineno, entre outros componentes, de *Pinus sylvestris* L. (uma conífera européia). Dessa forma, as larvas desses insetos se defendem de predadores como as formigas (Harborne, 1993).

Os trabalhos apontados indicam a existência de funções diversificadas para óleos voláteis, em parte determinadas pelas relações com o meio, o que sugere ampla variação, de acordo com o ambiente.

4. FATORES DE VARIABILIDADE

A composição do óleo volátil de uma planta é determinada geneticamente, sendo geralmente específica para um determinado órgão e característica para o seu estágio de desenvolvimento (Teuscher, 1990), mas as condições ambientais são capazes de causar variações significativas. Alguns aspectos determinantes da variabilidade são abordados a seguir.

4.1. Quimiotipos

A ocorrência de quimiotipos ou raças químicas é freqüente em plantas ricas em óleos voláteis; seriam aqueles vegetais botanicamente idênticos, mas que diferem quimicamente. Por exemplo, para *Chrysanthemum vulgare* (L.) Berhn. (= *Tanacetum vulgare* L.) (catanga-de-mulata), apenas na Hungria, foram caracterizados 26 quimiotipos, com diferenças significativas na composição dos óleos (Teuscher, 1990).

4.2. Ciclo vegetativo

Numa determinada espécie, a concentração de cada um dos constituintes do seu óleo volátil pode variar durante o desenvolvimento do vegetal. No coentro (*Coriandrum sativum* L.), por exemplo, o teor de linalol é 50% maior nos frutos maduros do que nos verdes.

4.3. Fatores extrínsecos

O ambiente no qual o vegetal se desenvolve e o tipo de cultivo também influem sobre a composição química dos óleos voláteis. A temperatura, a umidade relativa, a duração total de exposição ao sol e o regime de ventos exercem uma influência direta, sobretudo sobre as espécies que possuem estruturas histológicas de estocagem na superfície. Nos vegetais em que a localização de tais estruturas é mais profunda, a qualidade dos óleos voláteis é mais constante. Exemplo disto é a hortelã-pimenta (*Mentha x piperita* L., Lamiaceae), que, quando cultivada em períodos de dias longos e noites curtas, apresenta um maior rendimento de óleo, com teor aumentado de mentofurano; ao contrário, noites frias favorecem a formação de mentol. Deve-se, preferencialmente, coletar plantas ricas em óleos voláteis bem cedo pela manhã ou à noite, pois o período de exposição ao sol pode provocar uma perda quantitativa importante do óleo existente no vegetal. O grau de hidratação do terreno e a presença de micronutrientes (N, P, K) também podem influenciar a composição dos óleos voláteis. Entretanto, não se pode prever ou estabelecer um único padrão; cada espécie reage de forma diferenciada.

4.4. Processo de obtenção

A labilidade dos constituintes dos óleos voláteis explica por que a composição dos produtos obtidos por arraste de vapor d'água difere da mistura dos constituintes inicialmente presentes nos órgãos secretores do vegetal (Schmaus e Kubeczka, 1985). Durante o processo de destilação, a água, a acidez e a temperatura podem provocar a hidrólise de ésteres, rearranjos, isomerizações, racemizações e oxidações.

5. EXTRAÇÃO, TRATAMENTO E CONSERVAÇÃO

Extração: os métodos de extração variam conforme a localização do óleo volátil na planta e com a proposta de utilização do mesmo. Os mais comuns estão sumarizados a seguir.

5.1. Enfloração (*Enfleurage*)

Esse método já foi muito utilizado, mas atualmente é empregado apenas por algumas indústrias de perfumes, no caso de algumas plantas com baixo teor de óleo de alto valor comercial. É empregado para extrair óleo volátil de pétalas de flores (laranjeiras, rosas); as pétalas são depositadas, a temperatura ambiente, sobre uma camada de gordura, durante um certo período de tempo. Em seguida, estas pétalas esgotadas são substituídas por novas até a saturação total, quando a gordura é tratada com álcool. Para se obter o óleo volátil, o álcool é destilado a baixa temperatura e o produto assim obtido possui alto valor comercial.

5.2. Arraste por vapor d'água

Os óleos voláteis possuem tensão de vapor mais elevada que a da água, sendo, por isso, arrastados pelo vapor d'água. Em pequena escala, emprega-se o aparelho de Clevenger. O óleo volátil obtido, após separar-se da água, deve ser seco com Na_2SO_4 anidro. Esse procedimento, embora clássico, pode levar à formação de artefatos em função da alta temperatura empregada. Preferencialmente, esse método é utilizado para extrair óleos de plantas frescas. A F. Bras. IV preconiza o uso de um aparelho tipo Clevenger, com modificações.

5.3. Extração com solventes orgânicos

Os óleos voláteis são extraídos, preferencialmente, com solventes apolares (éter, éter de petróleo ou diclorometano) que, entretanto, extraem outros compostos lipofílicos, além dos óleos voláteis. Por isso, os produtos assim obtidos raramente possuem valor comercial.

5.4. Prensagem (ou expressão)

Esse método é empregado para a extração dos óleos voláteis de frutos cítricos. Os pericarpos desses frutos são prensados e a camada que contém o óleo volátil é, então, separada. Posteriormente, o óleo é separado da emulsão formada com a água através de decantação, centrifugação ou destilação fracionada.

5.5. Extração por CO_2 supercrítico

Esse método permite recuperar os aromas naturais de vários tipos e não somente óleo volátil, de modo bastante eficiente e, atualmente, é o método de escolha para extração industrial de óleos voláteis. Nenhum traço de solvente

permanece no produto obtido, tornando-o mais puro do que aqueles obtidos por outros métodos. Para tal extração, o CO_2 é primeiramente liquefeito através de compressão e, em seguida, aquecido a uma temperatura superior a 31°C . Nessa temperatura, o CO_2 atinge um quarto estado, no qual sua viscosidade é análoga a de um gás, mas sua capacidade de dissolução é elevada como a de um líquido. Uma vez efetuada a extração, faz-se o CO_2 retornar ao estado gasoso, resultando na sua total eliminação. Para uma revisão, ver, por exemplo, Maul et al., 1996.

Tratamento: freqüentemente, é necessário branquear, neutralizar ou retificar os óleos voláteis extraídos. A retificação, a seco ou por jato de vapor d'água sob pressão reduzida, permite eliminar os componentes irritantes ou com odor desagradável, obtendo-se produtos finais com alto valor. A desterpeneização, que é um tipo especial de retificação, tem por objetivo eliminar os hidrocarbonetos terpênicos. A utilização de técnicas cromatográficas, em particular a cromatografia de exclusão, permite uma separação dos óleos voláteis dos outros compostos lipofílicos não-voláteis e, até mesmo, um fracionamento dos mono- e sesquiterpenos.

Conservação: a relativa instabilidade das moléculas que constituem os óleos voláteis torna difícil sua conservação. As possibilidades de degradação são inúmeras e podem ser estimadas através da medição de alguns índices (peróxido, refração), da determinação de características físico-químicas (viscosidade, miscibilidade com álcool, poder rotatório), além da análise por cromatografia gasosa (CG). A deterioração dos óleos voláteis reduz seu valor comercial, além de constituir um fator de risco quando eles são destinados ao uso externo, já que podem provocar alergias ou dermatites de contato.

As alterações ocorrem, principalmente, por reações de oxidação (os constituintes insaturados são mais facilmente oxidáveis que os saturados) e de polimerização. Um fenômeno particular de deterioração é conhecido como resiniificação e consiste na oxidação ao ar, sob a luz, com conseqüente mudança de odor, sabor, cor e viscosidade da essência de terebintina (óleo-resina extraída de várias espécies de *Pinus*).

Os óleos voláteis devem ser guardados dessecados (secos com Na_2SO_4 anidro) e livres de impurezas insolúveis. Para reduzir as degradações, deve-se empregar frascos de pequeno volume, em embalagens neutras, feitas de alumínio, aço inoxidável ou vidro âmbar, completamente cheios e hermeticamente fechados, que devem ser estocados a baixa temperatura ou, de preferência, em atmosfera de nitrogênio. O emprego de recipientes plásticos, especialmente de polietileno e polipropileno, apresenta problemas de permeabilidade e adsorção de componentes dos óleos voláteis, como foi demonstrado por Neuwald e Scheel, em 1969, para extratos de camomila. Deve-se evitar o uso de vedações de borracha, plásticas ou de couro, pois são materiais que podem se dissolver ou endurecer com o passar do tem-

po. Além disso, com o uso de materiais plásticos, agentes plastificantes, como os ftalatos, podem ser liberados e contaminarem o óleo volátil, diminuindo seu valor comercial. A limpeza dos vidros é, também, de fundamental importância, pois traços de metais podem catalisar processos de oxidação. Dependendo da destinação do produto, pode-se adicionar um antioxidante.

6. AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE MATÉRIAS-PRIMAS VEGETAIS RICAS EM ÓLEOS VOLÁTEIS E DE ÓLEOS VOLÁTEIS

Os óleos voláteis apresentam frequentemente problemas de qualidade, que podem ter origem na variabilidade da sua composição (ver item 4), na adulteração ou falsificação ou, ainda, na identificação incorreta do produto e sua origem. Os produtores de grande parte dos óleos voláteis comercializados não apresentam a identificação correta da planta da qual o produto foi obtido (nome científico), a parte do vegetal que foi empregada e a procedência do mesmo. A origem geográfica pode, algumas vezes, auxiliar na identificação botânica e determinar composição diferenciada. Isso gera inúmeras confusões, inclusive quanto às propriedades de cada produto. Quando se fala do óleo volátil de orégano, por exemplo, pode tratar-se de *Origanum vulgare* L. ssp. *viride* (Boiss.) Hayak (Lamiaceae), se sua origem for a Grécia, de *Coridothymus capitatus* (L.) Rchb. f. (Lamiaceae), se for da Espanha, *Lippia graveolens* Kunth (Verbenaceae), se for do México, ou de *Origanum onites* L. (Lamiaceae), se for da Turquia (Bruneton, 1995). Outros exemplos poderiam ser citados e este fato serve para mostrar que as regras de designação destes produtos precisam ser cumpridas, já que a denominação do binômio do vegetal, em latim, seguido dos seus autores é a única forma de dirimir dúvidas quanto à identidade botânica correta (ver capítulo "Nomenclatura botânica, classificação e identificação de plantas medicinais").

A adulteração e mesmo a falsificação de óleos voláteis já é conhecida desde os tempos mais antigos (Steinegger e Hansel, 1992). Além da fraude evidente ao consumidor, dependendo do tipo de falsificação, esta pode acarretar consequências negativas para a saúde do usuário e, portanto, especial atenção deve ser reservada a esse tipo de problema. Tipicamente, os seguintes procedimentos são usados para falsificar óleos voláteis:

- adição de compostos sintéticos, de baixo preço, tais como álcool benzílico, ésteres do ácido ftálico e até hidrocarbonetos clorados;
- mistura do óleo volátil de qualidade com outros óleos de menor valor para aumentar o rendimento;
- adição das substâncias sintéticas que são os compostos principais do óleo em questão;

– falsificação completa do óleo através de misturas de substâncias sintéticas dissolvidas num veículo inerte.

Estima-se que aproximadamente 80% dos óleos voláteis disponíveis no mercado não mais apresentam sua composição original (Karg, 1981). Sabe-se que existe uma grande variedade de estratégias sofisticadas de falsificação e, dessa forma, torna-se difícil detectá-las através de métodos relativamente simples constantes em obras de referência.

Geralmente, os procedimentos para realizar o controle da qualidade de matérias-primas vegetais ricas em óleos voláteis estão codificados em farmacopéias (World, 1998). Além dos exames morfológicos e microscópicos comuns, pode-se realizar a visualização *in situ* dos óleos voláteis, através de corantes lipofílicos apropriados, embora não-específicos. A avaliação também compreende, geralmente, a análise do óleo volátil através de cromatografia em camada delgada (CCD).

A principal determinação quantitativa é o doseamento do óleo volátil, extraído por arraste de vapor d'água, em aparelho tipo Clevenger modificado, como aquele preconizado pela F. Bras. IV. Os óleos voláteis podem também ser avaliados através de outros ensaios: miscibilidade com o etanol, índice de refração, poder rotatório, densidade, determinação dos índices de acidez, de ésteres, de carbonilas, além de análises cromatográficas (CCD, CG, CLAE).

Assim sendo, existem vários métodos que podem ser usados para realizar a avaliação da qualidade, não somente de matérias-primas vegetais ricas em óleos voláteis, como também dos óleos voláteis propriamente ditos. Esses métodos podem ser classificados em organolépticos, físicos, químicos ou físico-químicos. No universo dos métodos há muitas opções de escolha, que dependem do tipo e quantidade de amostra, do rigor analítico requerido e da infra-estrutura laboratorial disponível. Serão descritos a seguir alguns dos métodos mais utilizados.

6.1. Testes organolépticos

Uma das características mais evidentes de um óleo volátil é o seu odor. O olfato do ser humano é um instrumento muito potente para analisar amostras odoríferas e, em muitos casos, quando treinado, pode ser até mais sensível do que alguns métodos instrumentais. Em alguns casos, por exemplo, o odor percebido ao triturar o material vegetal (folhas, flores) permite reconhecer falsificações que são dificilmente detectáveis através de análise anatômica com lupa. A vantagem destes testes é, porém, a falta de objetividade, já que a descrição verbal de um odor é extremamente difícil e pode variar de acordo com o indivíduo. Assim, muitas farmacopéias exigem que a análise

organoléptica seja feita por comparação direta do óleo volátil em questão com a planta da qual o óleo foi extraído. Para isso, é necessário que o analista tenha uma certa experiência para poder realizar fidedignamente os testes organolépticos.

Para a avaliação organoléptica de um óleo volátil isolado, recomenda-se aplicar o óleo em um papel de filtro e cheirá-lo várias vezes durante sua evaporação. Como cada componente de um óleo tem uma volatilidade diferente, é possível, com treino, distinguir diferentes frações deste óleo.

Geralmente um odor fraco demonstra que o vegetal ou o óleo volátil isolado já perdeu a maioria dos seus compostos voláteis. Um odor desagradável, por sua vez, que pode ser causado por produtos de degradação química ou microbiana, indica má conservação do produto e deve ser rejeitado.

6.2. Controle da identidade e da pureza

Para avaliar a qualidade de um óleo volátil, de uma matéria-prima vegetal rica em óleo volátil ou de um medicamento que contenha óleo volátil, é necessário dispor de informações analíticas sobre a identidade e a pureza do material em questão. É importante salientar que, em certos casos de falsificação, esta não pode ser detectada somente com métodos que forneçam informações básicas. Por exemplo: informações isoladas sobre as seguintes características não permitem, por si só, afirmar com certeza a identidade de um óleo volátil: densidade relativa $[d]^{20}$ em relação a água (os valores encontram-se geralmente entre 0,69 e 1,118, e são característicos para cada óleo); índice de refração $[\eta]_D^{20}$ (os valores encontram-se entre 1,450 e 1,590, e cada óleo tem um valor característico); rotação óptica $[\alpha]_D^{20}$ (os intervalos dos valores preconizados pelas farmacopéias são relativamente grandes, por exemplo, óleo de eucalipto: $[\alpha]_D^{20}$ entre 0 e 10; óleo de menta: $[\alpha]_D^{20}$ entre 16 e 30). O ponto de solidificação é geralmente usado em casos de substâncias puras, mas pode ser referenciado para óleos voláteis que tenham uma substância majoritária como, por exemplo, o óleo volátil de eucalipto (1,8-cineol) e o óleo volátil de erva-doce (anetol). No último caso, o ponto de solidificação situa-se entre 15 e 19°C, o anetol puro cristaliza a 21,1°C e um óleo com 85% de anetol apresenta um ponto de solidificação de 14°C. Se os valores medidos encontram-se nas faixas dos dados da literatura, é possível que o material analisado não tenha sido falsificado, mas como já foi mencionado, uma falsificação não pode ser totalmente excluída e, para certificar-se dessa identidade, outros métodos devem ser utilizados, como a cromatografia gasosa.

Para o controle da pureza de óleo volátil, as farmacopéias propõem vários métodos de rotina. A título ilustrativo, podem ser citados alguns (para os procedimentos ver *Pharmacopoea Europea*, 1997; Hartke, 1986; Stahl e Schild, 1981; Böhme e Hartke, 1979).

– *Fração solúvel em água*: com esse teste é possível detectar a presença de substâncias polares, tais como álcoois, glicóis, éteres de glicol e acetato de glicerila. Para fazer esse teste, o óleo é adicionado a uma solução saturada de NaCl e, após misturar-se as duas fases, o volume da fase oleosa não deve alterar-se; caso isso ocorra, é indicativo da presença de substâncias solúveis em água. A verificação da presença de água é um teste preconizado pela maioria das farmacopéias, geralmente através de um teste simples, observando-se a turvação quando se adiciona o óleo ao solvente CS_2 .

– *Hidrocarbonetos halogenados*: o óleo volátil é mineralizado em uma placa de porcelana. Quando o óleo volátil contém hidrocarbonetos halogenados, forma-se um resíduo de sais de cloreto, solúvel em ácido nítrico e que precipita na forma de cloreto de prata, quando são adicionadas algumas gotas de uma solução de nitrato de prata.

– *Metais pesados*: trata-se de um teste de ensaio limite, em que é realizada uma extração do óleo volátil com um solução de HCl diluída; na fase aquosa, adiciona-se tioacetamida em solução tamponada e esse reagente libera íons sulfeto, que são usados para a detecção de metais pesados.

– *Ésteres do ácido ftálico*: nesta prova, também denominada teste para ésteres estranhos, é realizada uma saponificação, com uma solução etanólica de KOH. O ftalato de potássio não é solúvel em etanol e forma-se, então, um precipitado cristalino, nos casos de falsificação.

– *Resíduo de evaporação*: esse resíduo é obtido após aquecimento em banho-maria, durante um tempo definido; um óleo volátil de boa qualidade não deve apresentar resíduo. Assim, a adição de um óleo fixo ou de outras substâncias pouco voláteis é facilmente detectável; em óleos voláteis oxigenados ou polimerizados (antigos ou mal armazenados) é comum a presença de produtos pouco voláteis. Pode-se, também, detectar a adição de óleos fixos nos óleos voláteis aplicando-se simplesmente uma gota do óleo em um papel de filtro: se uma mancha transparente persistir após 24 horas, isso indica a adição.

– *Miscibilidade em etanol*: esse método também permite a detecção de falsificações com óleos fixos, óleos minerais ou mesmo outro óleo volátil. Para cada óleo volátil natural, existe um valor que indica sua miscibilidade numa solução de etanol/água (20°C), em que o óleo volátil é miscível de forma transparente ou opalescente.

6.3. Análise quantitativa dos componentes de óleos voláteis

A composição química dos óleos voláteis é muito complexa; por conseguinte, existe uma grande variedade de métodos diferentes para cada óleo volátil. A título ilustrativo, serão citados alguns desses métodos:

– *Ponto de solidificação*: além de poder ser utilizado para uma avaliação qualitativa, esse parâmetro pode ser usado também para uma análise quantitativa, quando a substância principal de um óleo volátil é aquela que existe em maior concentração. A Farmacopéia Européia, por exemplo, preconiza a determinação do ponto de solidificação do óleo com o-cresol quando se quer determinar a concentração de eucaliptol em óleos de espécies de *Eucalyptus*.

– *Determinação alcalimétrica de álcoois terpênicos após acetilação*: esse método baseia-se no fato de que, durante o processo de acetilação em piridina, uma certa quantidade de anidrido do ácido acético é consumida. Essa quantidade pode ser analisada, após hidrólise do anidrido com água, através da titulação do ácido acético com hidróxido de sódio. A quantidade de NaOH em comparação ao experimento controle, sem amostra, permite calcular a quantidade de ácido acético necessária para esterificar os álcoois livres. Esse método é usado frequentemente para a determinação do mentol em óleos de menta.

– *Determinação acidimétrica de ésteres de terpenóides após saponificação*: nesse método, o óleo volátil é aquecido com uma substância alcalina e depois titulado com um ácido. A Farmacopéia Européia, por exemplo, preconiza-o para determinar o conteúdo de ésteres em óleos voláteis de menta.

– *Determinação de terpenóides cetônicos e aldeídicos através de titulação oximétrica*: durante a transformação da função cetona para oxima com cloridrato de hidroxilamina, é liberada uma quantidade equivalente de prótons, que são titulados com uma solução etanólica de hidróxido de potássio. Esse método pode ser usado, por exemplo, para determinar o conteúdo de citral em óleos voláteis de frutos cítricos ou o conteúdo de carvona em óleos de cominho.

– *Determinação volumétrica de fenóis*: o princípio desse método baseia-se no fato de que os fenóis formam ions fenolatos em meio alcalino. Quando presentes em um óleo volátil, a extração com uma solução alcalina provoca uma redução de volume equivalente ao teor de compostos fenólicos. Pode-se, ainda, aquecer a mistura do óleo e álcali para obter uma saponificação dos ésteres dos fenóis. Assim, é possível determinar, por exemplo, o teor de eugenol livre e esterificado em óleo de cravo-da-índia. O método também é usado para analisar timol e carvacrol no óleo de tomilho.

– *Determinação espectrofotométrica*: com esse método pode-se quantificar substâncias que absorvem luz ultravioleta ou visível, ou substâncias que podem ser transformadas em compostos corados através de reagentes cromogênicos. É usada, por exemplo, para determinar a concentração de azulenos em óleo volátil de camomila. Infelizmente, as substâncias de interesse eventualmente aparecem somente em baixas concentrações, ou não apresentam absorção, e uma determinação torna-se difícil com os métodos espectrofoto-

métricos de rotina. Nesses casos, são analisadas as substâncias que podem ser determinadas com mais facilidade, mas com o risco maior de que adulterações ou falsificações não sejam percebidas.

6.4. Análise do teor de óleo volátil em drogas vegetais

Muitas farmacopéias especificam um teor mínimo de óleo volátil para cada planta. Para avaliar esse teor, usam-se métodos baseados na grande volatilidade dos óleos voláteis, arrastados por vapor d'água. Para esse tipo de análise, o aparelho de Clevenger é bastante usado (World, 1998). Devido ao formato desse aparelho, o método somente funciona com óleos voláteis que tenham peso específico menor do que 1. Para usar o aparelho de Clevenger no caso de óleos voláteis com pesos específicos próximos ou maior do que 1 (por exemplo, óleos de canela e de cravo-da-índia), é necessário adicionar um volume conhecido de xilol. Essa substância não se mistura com a água, mas dissolve o óleo volátil. Assim, a solução do óleo volátil com o xilol encontra-se acima da superfície da água e o conteúdo do óleo pode ser calculado após subtrair-se o volume do xilol adicionado.

6.5. Métodos cromatográficos de análise

6.5.1. Análise por cromatografia em camada delgada

A cromatografia em camada delgada (CCD) é um método bastante usado na análise de óleos voláteis, já que permite obter várias informações sobre um óleo volátil em curto espaço de tempo, com pouca amostra (menos que 1 µl) e com poucos custos. O perfil cromatográfico em CCD é característico para cada óleo e permite, em muitos casos, uma confirmação da identidade de um óleo e até a detecção de falsificações. Existe uma literatura muito rica para esse assunto, inclusive, atlas com reproduções de cromatogramas para comparação (Wagner e Bladt, 1995; Pachaly, 1996). Geralmente, são usadas placas de gel de sílica como fase fixa e, como fase móvel, existe uma grande variedade de sistemas de solventes. A detecção é feita, inicialmente, sob luz ultravioleta e depois a placa é revelada com um reagente adequado para cada caso, com o objetivo de facilitar a visualização dos componentes do óleo. As cores das manchas e seus valores de R_f fornecem informações sobre cada composto. Também é possível usar esse método como um método semi-quantitativo: aplicam-se padrões de concentração conhecida ao lado da amostra e, após a revelação, a intensidade da coloração da mancha dos componentes é comparada visualmente com as manchas dos padrões. Como a CCD fornece muitas informações analíticas sem exigir equipamentos sofisticados, as farmacopéias recomendam frequentemente sua utilização.

6.5.2. *Análise por cromatografia gasosa e por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas*

A cromatografia gasosa é o método de escolha para separar e quantificar substâncias componentes de óleos voláteis. Apesar do seu alto poder de diferenciação, é um método muito simples de usar. Como os óleos são suficientemente voláteis, a amostra é somente solubilizada em solventes como hexano, antes de ser injetada no cromatógrafo. Para a separação, utilizam-se, atualmente, colunas capilares. As colunas empacotadas são obsoletas para a análise de óleos voláteis. Para uma idéia da diferença da capacidade de separação: a análise de um óleo de menta realizada em 1967 com coluna empacotada apresentou 12 picos separados, enquanto que análises realizadas com coluna capilar apresentam, tipicamente, acima de 100 picos separados.

A identificação dos compostos individuais pode ser realizada através da comparação do tempo de retenção relativo da amostra com padrões. Para ser mais independente das variações do tempo de retenção, sob condições diferentes da medida, foi introduzido o *índice de Kovats (IK)* que relaciona o tempo de retenção dos compostos ao tempo de retenção de uma série de hidrocarbonetos homólogos. Tais índices permitem uma comparação melhor dos dados entre laboratórios diferentes. Alguns autores tabelaram grandes listas de *índice de Kovats* para compostos voláteis que permitem uma comparação com componentes da amostra. Os valores encontram-se entre 900 (volátil) e 1900 (menos volátil). Um valor de 950 significa que a substância está eluindo entre nonano (IK=900) e decano (IK=1000) (veja livros sobre CG, por exemplo, Sandra e Bicchi, 1987; Jennings e Shibamoto, 1980). Como duas substâncias diferentes podem ter, por acaso, o mesmo ou *índices de Kovats* muito parecidos em uma coluna, é recomendável usar pelo menos duas colunas de polaridades diferentes. Assim, as colunas mais usadas são OV-1 (uma fase apolar de polimetilsioxana) e Carbowax-20 M (uma fase polar de polietilenoglicol). Pode-se instalar duas colunas em um cromatógrafo e analisar uma amostra nas duas colunas ao mesmo tempo ("análise de dois canais"). Se os *índices de Kovats* de uma substância e de um padrão são muito próximos, usando as duas colunas (por exemplo: substância X (OV-1): 1024; padrão (OV-1): 1025; substância X (Carbowax 20-M): 988; padrão (Carbowax 20-M): 989) é muito provável que seja a mesma substância. Para facilitar a comparação entre o cromatograma de uma amostra e o de um padrão, usando as mesmas condições de análise, pode-se superpor os dois cromatogramas, o que já é realizado através de programas específicos de computadores, que permitem fazer esse tipo de comparação.

Usando colunas com fases estacionárias como ciclodextrinas modifi-

cadadas, a separação de estereoisômeros é possível (König, 1992). Isso é importante na detecção de falsificações, já que na natureza, na maioria das vezes, somente um isômero é formado, enquanto, por síntese obtém-se geralmente um racemato.

Para quantificar a composição de um óleo volátil, é usado o *método de normalização ou método do 100%*: o valor total das áreas de cada pico é considerado como 100%. Esse método não é muito exato, pois a resposta do detector (geralmente um detector FID, de ionização de chama) é diferente para cada composto. As vezes, é necessário quantificar um ou mais componentes com mais precisão. Nesse caso, o método do padrão interno ou método de adição é usado (veja livros sobre CG, por exemplo, Sandra e Bicchi, 1987; Jennings e Shibamoto, 1980; Schomburg, 1990; Jennings et al., 1997).

Para ter mais segurança na identificação dos picos individuais e controlar a pureza de um pico cromatográfico, é recomendável analisar um óleo volátil também por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas. Esse método permite, como a CG, a separação dos componentes e fornece, ainda, um espectro de massas para cada pico. O espectro de massas geralmente indica a massa molecular e o padrão de fragmentação. A massa molecular já informa sobre a classe de substância (p.ex. m/z 136 para monoterpenoides com $C_{10}H_{16}$). O padrão de fragmentação pode ser comparado com aqueles constantes da biblioteca de espectros de massas, que, normalmente, é instalada no computador. Em alguns segundos, o espectro da amostra é comparado com os das substâncias da biblioteca (por exemplo, biblioteca de "NIST/EPA/NIH") e o computador faz propostas de probabilidade quanto à identidade da substância analisada. Mesmo que esse sistema constitua um grande avanço, o analisador tem de decidir, finalmente, se a resposta do computador é correta. Deve-se ter em mente que os dados de espectros da biblioteca são obtidos geralmente com outros aparelhos. Assim, os padrões de fragmentação podem mostrar variações na intensidade dos picos e isso pode dificultar a comparação dos picos mais intensos da amostra e dos espectros da biblioteca. Por isso, para a identificação com segurança também é importante considerar os dados de retenção. Mesmo com essas possibilidades é normal que quase sempre sobre picos que não podem ser identificados. Para permitir uma elucidação estrutural desses compostos, outros métodos analíticos terão de ser usados.

6.5.3. Análise por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

Embora de desenvolvimento mais recente do que a cromatografia gasosa, a CLAE vem sendo empregada na avaliação qualitativa e quantitativa de óleos voláteis desde a década de 70 (Meyer, 1979). Metodologias isocráticas

e em gradiente, utilizando colunas de fase reversa, especialmente C8, estão descritas na literatura para diversos óleos voláteis, como, por exemplo, para camomila (Hyvonen et al., 1991) e arnica-mexicana (Willuhn et al., 1985).

6.6. Análise dos óleos voláteis por ressonância magnética nuclear de carbono-13 (RMN ^{13}C)

A ressonância magnética nuclear de carbono-13 é muito usada na elucidação estrutural de compostos orgânicos (veja livros sobre espectroscopia). Geralmente, é aplicada para substâncias puras, mas os óleos voláteis podem também ser analisados diretamente, após diluição em clorofórmio deuterado (cerca de 20 mg do óleo volátil em 3 ml de CDCl_3). Para a análise de misturas, é recomendável usar um aparelho de RMN de pelo menos 300 MHz. Com um pouco de experiência e dados da literatura (por exemplo Formacek e Kubiczka, 1982) ou padrões de comparação, pode-se identificar rapidamente os compostos principais, inclusive diferenciando os estereoisômeros. O método é especialmente útil quando aplicado em conjunto com os dados de retenção da análise paralela por CG (ver exemplos de aplicação em Bordignon et al., 1996, 1997, 1998). Por outro lado, as desvantagens da RMN ^{13}C são a falta de sensibilidade e o alto custo do equipamento.

6.7. Outros métodos

Existem várias outras técnicas sofisticadas para analisar óleos voláteis. Como, por exemplo, GC-FTIR-MS, análise em espaço confinado (*Headspace analysis*), SPME. O leitor interessado pode consultar as referências: Sandra e Bicchi, 1987; Linskens e Adams 1991; Linskens e Allen, 1997.

7. IMPORTÂNCIA ECONÔMICA

Pela utilização crescente nas indústrias de alimentos, cosméticos e farmacêutica, o cultivo de espécies aromáticas e a obtenção de óleos voláteis constituem importantes atividades econômicas. Embora difícil de estimar, avalia-se que, para a obtenção de óleos de espécies da família Lamiaceae, sejam cultivados mais de 500 mil hectares (Lawrence, 1992), destacando-se como espécies de maior utilização e respectiva produção mundial em toneladas/ano: *Mentha arvensis* L. var. *piperascens* Holmes (8600), *Mentha x piperita* L. (2367), *Mentha spicata* L. (880), *Lavandula x intermedia* Emeric ex Loisel. (768), *Pogostemon cablin* (Blanco) Benth. (563), *Mentha x gracilis* Sole (530), *Lavandula angustifolia* Mill. (462) e *Rosmarinus officinalis* L. (295). Embora a utilização maior ocorra nas áreas de alimentos (condimentos e aromatizantes de alimentos e bebidas) e cosméticos (perfumes e produtos de higiene), também em farmácias drogas vegetais ricas em óleos voláteis são

empregadas *in natura* para a preparação de infusões e/ou sob a forma de preparações galênicas simples. Ainda, muitos óleos voláteis são utilizados em função de suas propriedades terapêuticas e para a aromatização de formas farmacêuticas destinadas a uso oral.

8. DADOS FARMACOLÓGICOS

É importante não confundir as atividades farmacológicas de uma droga vegetal rica em óleos voláteis com as atividades farmacológicas do óleo isolado da mesma. O óleo volátil de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L., *Lamiaceae*), por exemplo, é antibacteriano, enquanto que a infusão da planta é empregada para o tratamento sintomático de problemas digestivos diversos, por suas propriedades antiespasmódicas e coleréticas, devidas à presença de compostos fenólicos.

Também deve-se levar em consideração que, se é possível estabelecer a atividade farmacológica de uma substância isolada, o mesmo não é tão fácil para um óleo volátil que, além de ser uma mistura complexa, pode ter sua composição química alterada por vários fatores (ver item 4). Algumas propriedades farmacológicas, entretanto, estão relativamente bem estabelecidas e podem servir de exemplos.

- **Ação carminativa:** alguns óleos produzem uma certa anestesia sobre a cárdia, permitindo seu relaxamento e conseqüente expulsão do ar do trato gastrointestinal. Exemplos: funcho, erva-doce, camomila, menta.

- **Ação antiespasmódica:** alguns óleos relaxam a musculatura lisa intestinal, diminuindo ou mesmo suprimindo espasmos (cólicas). Exemplos: camomila, macela, alho, funcho, erva-doce, sálvia.

- **Ação estimulante sobre secreções do aparelho digestivo,** justificando a propriedade estimulante do apetite. Exemplos: gengibre, genciana, zimbro.

- **Ação cardiovascular,** provocando aumento do ritmo cardíaco e da pressão arterial. Exemplos: óleos contendo cânfora (sálvia, canforeira).

- **Ação irritante tópica ou revulsiva (uso externo):** alguns produtos, tais como a essência de terebintina, provocam um aumento da microcirculação local com conseqüente efeito rubefaciente, sensação de calor e, em certos casos, uma ação anestésica local.

- **Ação secretolítica:** a ação irritante tópica pode provocar a atividade de secretora do epitélio respiratório, facilitando a fluidificação e a expulsão do muco, em alguns problemas respiratórios. Exemplos: eucalipto, anis-estrelado.

- **Ações sobre o SNC:** estimulante (óleos voláteis contendo cânfora), depressora (melissa, capim-limão) ou mesmo provocando convulsões em doses elevadas (losna, erva-de-santa-maria, sálvia, canela).

- Ação anestésica local: óleo volátil do cravo-da-índia, pelo seu alto teor em eugenol, que também tem atividade anti-séptica.
- Ação antiinflamatória: óleos voláteis contendo azulenos, como, por exemplo, a camomila.
- Ação anti-séptica (uso externo): alguns óleos voláteis inibem o crescimento de várias bactérias e fungos, devido à presença de compostos fenólicos, aldeídos e álcoois. Os compostos citral, geraniol, linalol e timol têm alto poder anti-séptico, superior ao do próprio fenol.

9. DADOS TOXICOLÓGICOS

Aqui também é necessário que se diferencie a toxicidade de plantas medicinais ricas em óleos voláteis e dos óleos voláteis delas isolados. Os óleos, freqüentemente, apresentam toxicidade elevada. Isso é particularmente importante levando-se em consideração a existência de terapias ditas "naturais", tais como a aromaterapia (definida como o tratamento de doenças por óleos voláteis), que estimulam a automedicação e o uso abusivo (Tisserand e Balacs, 1995). Os efeitos tóxicos dos óleos voláteis incluem não somente aqueles decorrentes de uma intoxicação aguda, mas também crônica. Além disso, os efeitos tóxicos dos óleos voláteis também podem ocorrer através do uso tópico (fototoxicidade e alergias). Deve-se, também, atentar para a sensibilidade dos indivíduos aos inúmeros componentes químicos de um óleo volátil e a ingestão concomitante de certos medicamentos, pois todos esses fatores podem provocar o aparecimento de reações adversas e/ou tóxicas. Geralmente a toxicidade dos óleos voláteis é dose-dependente; entretanto, existem situações, nas quais mesmo o uso de baixas doses pode provocar reações severas, principalmente nos casos de alergias de contato (sensibilização cutânea) e de fototoxicidade. O grau de toxicidade depende, também, da via de administração; a ingestão oral é aquela que provoca maiores riscos, especialmente se os óleos voláteis forem ingeridos não-diluídos. A maior parte dos dados relativos à toxicidade dos óleos voláteis diz respeito à administração oral (Tisserand e Balacs, 1995). Do ponto de vista químico, os óleos voláteis com alto teor de compostos insaturados são, geralmente, os mais tóxicos (Schilcher, 1985).

A toxicidade crônica dos óleos voláteis é pouco conhecida e ainda é necessário avaliar suas eventuais propriedades mutagênicas, teratogênicas e/ou carcinogênicas. A toxicidade aguda, entretanto, é mais conhecida. A título ilustrativo, são citados, a seguir, exemplos de toxicidade aguda de alguns óleos voláteis.

9.1. Reações cutâneas

Podem ser de três tipos: irritação, sensibilização e fototoxicidade. A irritação primária produzida por um agente irritante ocorre rapidamente e o grau de severidade depende da sua concentração. Exemplo de um óleo volátil que provoca irritação é o de mostarda. A sensibilização é um tipo de reação alérgica, que também ocorre na primeira exposição à substância, mas, nesta ocasião, o efeito causado na pele é leve ou mesmo não-detectável. Entretanto, a exposição subsequente ao mesmo material ou a algo similar poderá produzir uma reação inflamatória grave. Exemplos de óleos voláteis que provocam sensibilização: canela (pelo alto teor em cinamaldeído), funcho, alho e outros. Também é bem conhecida a dermatite de contato de pintores provocada pela essência de terebintina (óleo-resina extraída de várias espécies de *Pinus*, rica em hidrocarbonetos terpênicos), usada como diluente de tintas.

Um grupo de substâncias químicas existentes em óleos voláteis são potenciais agentes fotossensibilizantes e as reações a esses compostos são idiossincráticas (isto é, variam de pessoa para pessoa). Exemplos de óleos voláteis que causam fotossensibilização são os de frutos cítricos, tais como o óleo de bergamota, pelo seu teor em furanocumarinas (Tisserand e Balacs, 1995; Schilcher, 1985).

9.2. Reações no SNC

9.2.1. Efeitos convulsivantes:

Alguns dos óleos voláteis ricos em tujona (losna, sálvia), fenchona (funcho), cânfora e pinocanfona (hissopo, manjeriço) são neurotóxicos em altas doses, podendo provocar crises epileptiformes ou tetaniformes (convulsões), distúrbios sensoriais e até psíquicos.

9.2.2. Efeitos psicotrópicos:

O óleo volátil de noz-moscada pode produzir excitação, alucinações visuais e distorções de cores, com sensações de fuga da realidade e despersonalização (Forrest e Heacock, 1972; Payne, 1963). Esses efeitos psicóticos foram relacionados com a presença de miristicina e elemicina no óleo volátil.

10. DROGAS VEGETAIS CLÁSSICAS

Os óleos voláteis apresentam ampla distribuição em vegetais superiores. Estimativas sugerem a sua ocorrência em 30% das espécies investigadas (Teuscher, 1990). Da mesma forma, eles estão presentes em muitas

drogas vegetais, contribuindo para as suas características organolépticas e muitas vezes também para as propriedades terapêuticas atribuídas, como no caso da *Chamomilla recutita* (L.) Rauschert (camomila), *Calendula officinalis* L. (calêndula), *Melissa officinalis* L. (erva-cidreira), *Salvia officinalis* L. (sálvia), entre outras. São também componentes importantes e determinantes da qualidade da maioria das plantas utilizadas como condimentos, como *Carum carvi* L. (cominho), *Cinnamomum verum* J. S. Presl. = *Cinnamomum zeylanicum* Bryn (canela-do-ceilão), *Coriandrum sativum* L. (coentro), *Elettaria cardamomum* (L.) Maton (cardamomo), *Ocimum basilicum* L. (basilicão, manjeriço, alfavaca), *Origanum vulgare* L. (orégano), *Origanum majorana* L. (manjerona), *Pimpinella anisum* L. (ervadoce), *Rosmarinus officinalis* L. (alecrim, rosmarino), entre outras. A seguir, são citados alguns exemplos de drogas vegetais, para as quais o teor em óleo volátil é considerado como determinante do seu emprego e qualidade e que constituem culturas economicamente importantes, tanto para a obtenção de óleos voláteis como dos seus constituintes.

EUCALIPTO

Nome científico: *Eucalyptus globulus* Labill.

Família botânica: Myrtaceae

Parte utilizada: folhas

Monografias farmacopéicas: F. Bras. IV, DAB 1998

A F. Bras. IV estabelece para a droga um teor mínimo de óleo volátil de 0,8%, com teor de cineol acima de 70%. Já a Farmacopéia Alemã exige o teor mínimo de 2% de óleo. É utilizada em preparações farmacêuticas com indicação no tratamento de problemas respiratórios (Blumenthal, 1998) e, principalmente, para a obtenção do óleo volátil, amplamente empregado pela ações expectorante, anti-séptica e flavorizante, freqüentemente em associação com óleo de menta ou mentol. São conhecidas cerca de 400 espécies de *Eucalyptus*, que fornecem óleos de diferentes composições. São utilizadas na terapêutica principalmente aquelas que contêm teor elevado de cineol (acima de 70%) e baixo teor de felandreno, considerado indesejável pela ação cardíaca (Wagner, 1980) e para o qual as farmacopéias estabelecem um teor máximo de 5% (Stahl e Schild, 1981; Ph. Eur. 1997). O óleo de eucalipto está inscrito em muitas farmacopéias, inclusive na F. Bras. II e Farmacopéia Européia 1997, a qual permite a sua obtenção a partir de diversas espécies, como *Eucalyptus globulus* Labill., *Eucalyptus fruticetorum* F. Muell. ex Miq. e *Eucalyptus smithii* R.T. Baker, desde que atendidas, entre outras, as especificações já referidas quanto aos teores de cineol e felandreno. Óleos obtidos de outras espécies, com menor teor de cineol ou que acumulam felandreno, são também utilizados com fins industriais e em perfumaria (Wagner, 1993) e ainda para a obtenção de piperitona e alfa-pineno, utilizados como intermediários de síntese.

HORTELA-PIMENTA

Nome científico: *Mentha x piperita* L.

Família botânica: Lamiaceae

Parte utilizada: folhas

Monografias farmacopéicas: F. Bras II, DAB 10, Ph. Eur. 1997, NF 18

A hortelã-pimenta, *Mentha x piperita* L. é um híbrido, originário do cruzamento entre diversas espécies, provavelmente *Mentha spicata* L., *M. aquatica* (L.) L., *M. longifolia* (L.) L. e *M. rotundifolia* (L.) Huds. (Wagner, 1993). Junto com *Mentha arvensis* L., é a espécie de maior interesse econômico na obtenção de óleos voláteis. Embora também utilizada em preparações farmacêuticas no tratamento de distúrbios gastrintestinais, a droga é utilizada principalmente para a obtenção do óleo, amplamente empregado como flavorizante, aditivo em alimento, em produtos de higiene bucal e em preparações farmacêuticas, no tratamento de problemas respiratórios e gastrintestinais. O óleo apresenta ações antimicrobiana e espasmolítica e é considerado o responsável pelas atividades carminativa e eupéptica da planta. Está presente na maioria das farmacopéias, inclusive na F.Bras. II, USNF 18 e na Farmacopéia Européia (Ph. Eur. 1997), a qual preconiza um teor de mentol entre 30 e 55%, de mentona entre 14 e 32% e valores limites quanto aos teores de pulegona e mentofurano, componentes indesejáveis pela ação hepatotóxica, entre outras exigências. O hidrolato de hortelã-pimenta, que consiste em uma solução saturada do óleo em água, está presente em algumas farmacopéias, inclusive no USNF 18.

Outros óleos de menta também apresentam importância econômica, principalmente o de *Mentha arvensis* L. var. *piperascens* Holmes (= menta-japonesa, constante da F.Bras. II), amplamente utilizado em produtos de higiene, constituindo a espécie de maior cultivo (Lawrence, 1992). Esses óleos são também utilizados para a obtenção de mentol.

FUNCHO

Nome científico: *Foeniculum vulgare* Mill. ssp. *vulgare* var. *vulgare* e *F. vulgare* Mill. ssp. *vulgare* var. *dulce* (Mill.) Thellung

Família botânica: Apiaceae

Parte utilizada: frutos

Monografias farmacopéicas: Ph. Eur. 1997, Chinesa (1990), Ph. Jap. 12 (1991).

Preparações farmacêuticas contendo funcho são empregadas pelas indicações como carminativo, antiespasmódico e expectorante, principalmente para crianças. O óleo é usado especialmente como aromatizante, já que possui problemas de toxicidade.

A Farmacopéia Européia preconiza para a variedade amarga, *Foeniculum vulgare* ssp. *vulgare* var. *vulgare*, um teor mínimo de óleo de 4%, com teores mínimos em anetol e fenchona de 60 e 15%, respectivamente, e teor máximo

de 5% em estragol para a variedade doce, um teor mínimo de óleo de 2%, com teor mínimo em anetol de 80% e teores máximo de 7,5% em fenchona e 10% em estragol. O amargor é determinado pelo teor em fenchona. Existem muitas variedades de *Foeniculum vulgare*, que apresentam diferenças marcantes quanto ao teor e à composição (Teuscher, 1990); os componentes considerados mais importantes são *E*-anetol (50 a 75% na variedade amarga e 75 a 95% na doce), estragol (3 a 80% na variedade amarga e 3 a 10% na doce) e fenchona (10 a 30% na variedade amarga e 1 a 8% na doce). O óleo está descrito em algumas Farmacopéias, como a Alemã (1993), Austríaca (1990), Suíça (1987), Japonesa (1991) e F. Bras. II. Seu emprego medicinal é restrito, sendo desaconselhado para gestantes e crianças (Blumenthal, 1998)

TOMILHO

Nome científico: *Thymus vulgaris* L. ou *Thymus zygis* L.

Família botânica: Lamiaceae

Parte utilizada: sumidades floridas

Monografias farmacopéicas: F.Bras. II, Ph. Eur. 1997, USNF 18

A droga é utilizada em preparações farmacêuticas com indicação para tratamento de problemas respiratórios (Blumenthal, 1998) e, principalmente, para a obtenção do óleo volátil, amplamente empregado pelas ações anti-séptica, expectorante, antiespasmódica, carminativa e como flavorizante. A Farmacopéia Européia preconiza um teor mínimo de 1,5% do óleo, com teor mínimo de 0,5% em fenóis, calculado como timol. O óleo apresenta ações antiséptica, expectorante, carminativa e antiespasmódica e é considerado responsável pela atividades atribuídas à planta. Essas ações estão relacionadas com o teor em timol (2-isopropil-5-metil-fenol) e seu isômero de posição, carvacrol (5-isopropil-2-metil-fenol), que perfazem 40 a 50% do óleo. Esses componentes apresentam ações antibacteriana e antifúngica maiores do que o fenol e, ao mesmo tempo, menor toxicidade. O óleo está inscrito na F. Bras. II e nas Farmacopéias da Áustria (1990), Hungria (1986) e Suíça (1987); a Farmacopéia Alemã (1998) inclui o extrato fluído, e monografias do timol estão presentes na maioria das farmacopéias, tendo em vista o seu amplo uso como anti-séptico, flavorizante e antioxidante.

11. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BLUMENTHAL, M. (Ed.) *The complete german Commission E monographs*. Austin/ Boston: American Botanical Council/Integrative Medicine, 1998.
- BÖHME, H.; HARTKE, K. (Hrsg.) *Europäisches Arzneibuch, Band I und Band II - Kommentar*. Stuttgart: Wissenschaftliche, Frankfurt: Govi, 1979.
- BORDIGNON, S.A.A. de L.; SCHENKEL, E.P.; SPITZER, V. The essential oil of *Cunila platyphylla* Epling (Lamiaceae). *Acta Farmacêutica Bonaerense*, v. 17, p. 143-146, 1998.

- BORDIGNON, S.A.A de L.; SCHENKEL, E.P.; SPITZER, V. The essential oil composition of *Cunila microcephala* and *Cunila fasciculata*. *Phytochemistry*, v. 44, p. 1283-1286, 1997.
- BORDIGNON, S.A.A de L.; SCHENKEL, E.P.; SPITZER, V. The essential oil of *Cunila incisa* (Lamiaceae) - A Rich Source of 1,8-Cineole. *Química Nova*, v. 19, p. 105-107, 1996.
- BREITMAIER, E. *Terpene*. Stuttgart: Teubner, 1999. 227 p.
- BRUNETON, J. *Huiles essentielles*. In: *Pharmacognosie huiles essentielles*. *Phytochimie. Plantes Médicinales*. 2. ed., Paris: TecDoc Lavoisier, 1995.
- CRAVEIRO, A.A.; MACHADO, M.I.L. De aromas, insetos e plantas. *Ciência Hoje*, v.4, n. 23, p. 54-63, 1986.
- FORMACEK, V.; KUBECZKA, K.H. *Essential oils analysis by capillary gas chromatography and carbon-13 NMR spectroscopy*. Chichester: John Wiley, 1982.
- FORREST, J.E.; HEACOCK, R.A. Nutmeg and mace, the psychotropic spices from *Myristica fragrans*. *Lloydia*, v. 35, p. 440-449, 1972.
- HARBORNE, J.B. *Ecological biochemistry*. 4. ed. London: Academic, 1993.
- HARTKE, K. (ed.). *DAB 9 kommentar*. Stuttgart: Wissenschaftliche, Frankfurt: Govi. 1986.
- HEGNAUER, R. *Chemotaxonomie der Pflanzen*. Basel: Birkhäuser, 1962-1990. v. 1-9.
- HEGNAUER, R. Verbreitung ätherischer Öle im Pflanzenreich. In: KUBECZKA, K.-H. (Ed.) *Vorkommen und Analytik ätherischen Öle*. Stuttgart: Thieme, 1979. p.1-10.
- HYVONEN, H.; TORKKELI, H.; HAKKINEN, V.M.; RIEKKOLA, M.L.; LEHTONEN, P.J. Two dimensional separation of the essential oil of chamomile by on-line HPLC-HRGC. *Acta Pharm. Fenn.*, v. 100, n. 4, p. 269-273, 1991.
- JENNINGS, W.; MITTFELDELD, E.; STREMPLE, P. *Analytical gas chromatography*. 2. ed., San Diego: Academic, 1997. 389 p.
- JENNINGS, W.; SHIBAMOTO, T. *Qualitative analysis of flavor and fragrance volatiles by glass capillary gas chromatography*. New York: Academic, 1980, 472 p.
- KARG, J.E. Das Geschäft mit ätherischen Ölen. *Seifen-Öle-Fette-Wachse*, v. 107, p. 122-123, 1981.
- KÖNIG, W. A. *Gas chromatographic enantiomer separation with modified cyclodextrins*. Heidelberg: Hüthig, 1992. 168 p.
- KESLEY, R.G.; REYNOLDS, G.W.; RODRIGUEZ, E. The chemistry of biologically active constituents secreted and stored in plant glandular trichomes. In: RODRIGUEZ, E.; HEALEY, P.L. *Biology and chemistry of plant trichomes*. New York: Plenum, 1984.
- KNOBLOCH, K.; WEIGAND, H.; WEIS, N.; SCHWARM, M.; VIGENSCHOW, H. Action of terpenoids on energy metabolism. In: BRUNKE, E.J. (ed.). *Progress in essential oil research*. Berlin: Gruyter, 1986.
- LAWRENCE, B.M. Chemical components of labiate oils and their exploitation. In: HARLEY, R.M.; REYNOLDS, T. (ed.). *Advances in labiate science*. Kew: Royal Botanic Gardens, 1992. p. 399-436.
- LINSKENS, H.F.; ADAMS, R.P. Modern methods of plant analysis 12. In: LINSKENS, H. F. (ed.). *Essential oils and waxes*. Berlin: Springer, 1991. 337 p.
- LINSKENS, H.F.; ALLEN, M.S., *Modern methods of plant analysis*. In: LINSKENS, H. F. (Ed.) *Plant volatile analysis*. Berlin: Springer, 1997. v.19. 266 S.

- MANN, J. *Secondary metabolism*. 2.ed. Oxford: Clarendon, 1987. 374 p.
- MAUL, A.A.; WASICKY, R.; BACCHI, E.M. Extração por fluido supercrítico. *Rev. Bras. Farmacog.* v. 5, p. 185-200, 1996.
- MEYER, V. *Praxis der Hochleistungs-Flüssigchromatographie*. Frankfurt: Deutscher, Sauerländer, 1979.
- MOTHE, K. Historical introduction. In: BELL, E.A.; CHARLWOOD, B.V. *Secondary plant products*. Berlin: Springer, 1980. p. 1-10
- NEUWALD, F.; SCHEEL, D. Untersuchungen über die Eignung von Behältern aus verschiedenen Kunststoffen als pharmazeutisches Verpackungsmaterial. *Pharm. Ind.*, v. 31, n. 11a, p. 879 - 882, 1969.
- PACHALY, D.C. *Atlas-Dünnschichtchromatographie in der Apotheke*. Stuttgart: Wissenschaftliche, 1996.
- PAYNE, R.B. Nutmeg intoxication. *New England Journal of Medicine*, v. 269, p. 36-38, 1963.
- SANDRA, P.; BICCHI, C. Capillary gas chromatography in essential oil analysis. In: SANDRA, P. (ed.). Heidelberg: Huethig, 1987. 435 p.
- SCHILCHER, H. Effects and side-effects of essential oils. In: SVENDSEN, A.B.; SCHEFFER, J.J.C. (ed.). *Essential oils and aromatic plants*. Dordrech: W.J. Publishers, 1985.
- SCHMAUS, G.; KUBECZKA, K.-H. The influence of isolation conditions on the composition of essential oils containing linalool and linalyl acetate. In: BAERHEIM SVENDSEN, A.; SCHEFFER, J.J.C. (ed.). *Essential oils and aromatic plants*. Dordrecht: Nijhoff/Dr. Junk, 1985. p. 127-134.
- SCHOMBURG, G. *Gas chromatography: a practical course*. Weinheim: VCH, 1990. 320 p.
- STAHL, E.; SCHILD, W. *Pharmazeutische biologie II: Drogenanalyse II: Inhaltsstoffe und Isolierung*. Stuttgart: Fischer, 1981.
- STEINEGGER, E.; HÄNSEL, R. *Pharmakognosie*. 5.ed. Berlin: Springer, 1992.
- TEUSCHER, E. *Pharmazeutische Biologie*. Braunschweig: Vieweg, 1990.
- TISSERARD, R.; BALACS, T. *Essential oil safety. A guide for health care professionals*. New York: Churchill Livingstone, 1995.
- WAGNER, H. *Pharmazeutische Biologie 2, Drogen und ihre Inhaltsstoffe*. 5.ed. New York: G. Fischer, 1993. 522 p.
- WAGNER, H.; BLADT, S. *Plant drug analysis. A thin layer chromatography atlas*. 2.ed., Berlin: Springer, 1995.
- WORLD Health Organization. *Quality control methods for medicinal plant materials*. Geneve, 1998. 115p.
- WILLUHN, G.; SCHNEIDER, R.; MATTHIESEN, U. Mexican arnica flowers: composition of the essential oil of the inflorescences of *Heteroteca inuloides*. *Dtsch. Apoth. Ztg.*, v. 125, p. 1941-1944, 1985.

II. SUGESTÕES PARA LEITURA

- BRUNETON, J. *Huiles essentielles*. In: *Pharmacognosie huiles essentielles. Phytochimie. Plants médicinales*. 2.ed. Paris: TecDoc Lavoisier, 1995.
- EVANS, W.C. Volatile oils and resins. In: *Trease and Evans' pharmacognosy*. 14. ed. London : WB Saunders, 1996.

- FROSCH, P.J.; JOHANSEN, J.D.; WHITE, I.R. (ed.). *Fragrances. Beneficial and adverse effects*. New York: Springer, 1998.
- ROBBERS, J.E.; SPLEDIE, M.K.; TYLER, V.E. *Pharmacognosy and pharmacobiotechnology*. Baltimore: William & Wilkins, 1996.
- TISSERAND, R.; BALACS, T. *Essential oil safety. A guide for health care professionals*. New York: Churchill Livingstone, 1995.
- TYLER, V.E.; BRADY, L.R.; ROBBERS, J.E. *Pharmacognosy*, 9.ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1988.
- WAGNER, H.; BLADT, S. *Plant drug analysis. A thin layer chromatography atlas*, 2. ed. Berlin: Springer, 1995.

AGRADECIMENTOS

Aos Professores Geraldo C. Coelho (Departamento de Biologia, UNIJUÍ/RS) e Eloir P. Schenkel e Pedro Ros Petrovick (Faculdade de Farmácia, UFRGS) pelas sugestões e leitura crítica do manuscrito.

POLISSACARÍDEOS

AUTOR

Gilsane Lino von Poser

SUMÁRIO DO CAPÍTULO

1. Introdução
2. Classificação
3. Principais tipos de polissacarídeos
4. Propriedades
5. Impacto fisiológico
6. Aplicações clínicas
7. Efeitos adversos
8. Interações medicamentosas
9. Drogas vegetais clássicas
10. Referências bibliográficas
11. Sugestões para leitura

1. INTRODUÇÃO

Polissacarídeos são polímeros de alto peso molecular, resultantes da condensação de um grande número de moléculas de aldoses e cetoses. Cada molécula de açúcar é ligada à vizinha por intermédio de uma ligação osídica formada pela ligação da hidroxila hemiacetalica em C-1 com qualquer das hidroxilas da outra molécula de açúcar, com eliminação de uma molécula de água. Esses produtos têm uma ampla distribuição na natureza e são constituintes essenciais de todos os organismos vivos. Ocorrem em bactérias e fungos (dextranos e goma xantana), em algas (alginas, carragenanos, ágar-agar) e em vegetais superiores (amido, celulose, gomas, mucilagens e pectinas) (Bruneton, 1993), possuindo funções variadas nestes sistemas biológicos (tabela 1).

Nas últimas décadas, polissacarídeos de origem vegetal emergiram como uma importante classe de produtos naturais bioativos. Atividades antitumoral, imunestimulante, anticomplemento, antiinflamatória, anticoagulante, antiviral, hipoglicêmica e hipocolesterolemizante têm sido relatadas para uma grande variedade de polissacarídeos (Srivastava e Kulshreshta, 1989; Boisson et al., 1995; Rívellese e Maffettone, 1995; Marchetti et al., 1996; Lee et al., 1997). Alguns estudos têm demonstrado, ainda, que certos polissacarídeos podem contribuir para a redução dos níveis de uréia plasmática de pacientes portadores de insuficiência renal crônica (Rémésy e Demigné, 1989; Younes et al., 1995; Bliss et al., 1996).

TABELA 1
Função dos polissacarídeos em sistemas biológicos

Função	Exemplos
Elemento estrutural	Celulose, hemicelulose, pectina
Polímeros de reserva	Amido, frutanos, mananos, galactomananos, xiloglicanos
Formadores de hidrogéis	Mucilagens em vacúolos e paredes celulares
Estruturais e funcionais	Mucopolissacarídeos e glicosaminoglicanos (em animais)

Fonte: Hänsel et. al, 1999.

Quanto à nomenclatura, alguns termos utilizados nem sempre estão associados ao conceito científico correto, como, por exemplo, a palavra goma para denominar uma mucilagem e, ainda, o termo resina, que é um produto de natureza terpenica e não glicídica (Lopes et al., 1991). Alguns polissacarídeos são denominados de "fibras alimentares". Há dificuldades em definir a expressão "fibra alimentar", universalmente adotada por nutricionistas, pois representa mais um conceito nutricional e fisiológico do que uma classe definida de substâncias químicas. Basicamente, fibras alimentares são polissacarídeos resistentes à digestão pelas enzimas do trato gastrointestinal humano e que apresentam algum efeito laxativo. Contudo, nessa categoria são incluídos ainda a lignina (molécula de natureza fenólica) e certos oligossacarídeos não digeríveis, esses últimos com propriedades semelhantes àsquelas de alguns polissacarídeos (Bacon, 1979; Schneeman, 1986; Waitzberg et al., 1990; Rombi, 1991; Bruneton, 1993; Spiller, 1994; Campbell et al., 1997).

2. CLASSIFICAÇÃO

Os polissacarídeos vegetais podem ser divididos em homogêneos ou homoglicanos, quando resultantes da condensação de um grande número de moléculas do mesmo açúcar (amido, celulose) (tabela 2) e heterogêneos ou heteroglicanos, formados pela condensação de diferentes tipos de açúcares (gomas, mucilagens e pectinas). Os produtos resultantes são, em ambos os casos, macromoléculas lineares ou ramificadas. A sequência repetitiva dos açúcares pode ser periódica, ou não-periódica, como no caso das pectinas, alginas e carragenanos. O grau de polimerização (GP) representa o número de monossacarídeos contidos nas macromoléculas. Poucos polissacarídeos têm GP inferior a 100 e, a maioria, encontra-se na faixa entre 200 a 3.000. Uma característica dos produtos encontrados na natureza é a polidispersidade, a qual representa a diversidade do GP para um mesmo produto, como é o caso da celulose, com GP entre 7.000 e 15.000. As características dos diferentes polissacarídeos são determinadas pela estrutura primária, tipo e sequência dos monossacarídeos, pelo grau de polimerização e pela conformação, que, atra-

vés da posição e tipo de ligação (tabela 2), originam a distribuição espacial de suas cadeias. Assim, conformações regulares produzem cadeias em *a-hélice*, dobradas (*ziguezague*) ou lineares, como é o caso de polissacarídeos com ligações (1→4) tipo amilose (α -(1→4)-D-glicopirranose), celulose (β -(1→4)-D-glicopirranose), pectinas (α -(1→4)-galacturonopirranose), alginas (α -(1→4) ácido L-gulurônico). Cadeias irregulares, com ligações osídicas em posições distintas, conduzem a moléculas com conformações tipo árvore, espinha-de-peixe ou enovelados randômicos. Eles também podem ser classificados pela sua solubilidade em água. Os polissacarídeos solúveis são as gomas, mucilagens e pectinas. Os polissacarídeos insolúveis, componentes da estrutura celular dos vegetais, são representados pela celulose e algumas hemiceluloses (Rombi, 1991; Bruneton, 1993; Spiller, 1994).

TABELA 2
Exemplos de homopolissacarídeos

Tipo	Exemplo	Ligação	fonte
β -D-glicanos	Celulose	β -(1→4)	vegetais terrestres
	Laminarina	β -(1→3), (1→6)	algas
	Liquenano	β -(1→3), (1→4)	líquens
α -D-glicanos	Amilose	α -(1→4)	vegetais
	Amilopectina	α -(1→4), (1→6)	vegetais
	Glicogênio	α -(1→4), (1→6)	animais
	Dextrano	α -(1→6), (1→4), (1→3)	bactérias
	Pululano	α -(1→4), (1→6)	fungos
	Isoliquenano	α -(1→3), (1→4)	líquens
Aminoglicanos	Quitina	β -(1→4)	insetos, crustáceos, fungos
	Heparina	α -(1→4), β -(1→4)	tecidos animais
β -D-frutanos	Inulina	β -(2→1)	Asteraceae
	Levano	α -(2→6)	bactérias, gramíneas
Galactanos	Agarose	α -L-(1→3), β -D-(1→4)	algas vermelhas
	Carragenanos	α -D-(1→3), β -D-(1→4)	algas vermelhas

Fonte: Hänsel et. al, 1999.

3. PRINCIPAIS TIPOS DE POLISSACARÍDEOS

1) Polissacarídeos de bactérias

a) Dextranos: são homopolímeros ramificados de glicose, de alta massa molecular (4 a $5 \cdot 10^7$), elaborados por uma enzima exocelular (dextrano-sucrase) de diferentes bactérias dos gêneros *Leuconostoc* (como *Leuconostoc mesenteroides*), *Lactobacillus* e *Streptococcus*. Cerca de 90% das unidades

de glicose encontram-se na cadeia linear principal, formada por ligações α -(1 $\rightarrow$ 4), enquanto que as ramificações são formadas por ligações 1 $\rightarrow$ 3, 1 $\rightarrow$ 4 e 1 $\rightarrow$ 2. Dispersões aquosas de dextranos são atóxicas, totalmente eliminadas pelo organismo por excreção renal, e apresentam viscosidade e osmolaridade semelhantes às do plasma sanguíneo sendo, assim, após degradação parcial, utilizadas como sucedâneas do plasma em estados de choques hipovolêmicos. Os dextranos são também empregados como espessantes na formulação de colírios (Bruneton, 1993).

b) Goma xantana: esta goma é elaborada pela bactéria *Xanthomonas campestris*; é um heteropolissacarídeo, com massa molecular de $2 \cdot 10^6$, que apresenta uma cadeia linear de unidades de glicose com ramificações trissacarídicas, através de ligações β -(1 $\rightarrow$ 4), constituídas de ácido glicurônico, manose e glicose.

Estes dois tipos de polímeros são largamente empregados como estabilizantes na formulação de suspensões e emulsões na área farmacêutica e como estabilizante e gelificante em sopas e geléias. Suas aplicações industriais são múltiplas, estando presentes na composição de tintas, explosivos, pesticidas, tecidos, etc. (Bruneton, 1993).

Outros polissacarídeos que têm recebido atenção, diante das possíveis aplicações industriais, são os **gelanos**, heteropolissacarídeos produzidos por diversas espécies de *Pseudomonas*, compostos por glicose, ramnose e ácido glicurônico; os **emulsanos**, heteropolissacarídeos capsulares bacterianos, com massa molecular de 10^6 , que apresentam, na sua estrutura, além da D-galactosamina, diaminodesóxi-glicosamina e ácido urônico. A estas encontram-se ligados, como ésteres ou amidas, ácidos graxos, conferindo-lhes um caráter anfífilo; os **acetanos**, por sua vez, são encontradas em *Acetobacter xylinum*, possuindo uma cadeia celulósica (β -(1 $\rightarrow$ 4)-D-glicopiranoose) com ramificações pentassacarídicas de manose, glicose, ramnose e ácido glicurônico.

II) Polissacarídeos de algas

O principal interesse econômico de algas deve-se às propriedades espessantes e gelificantes de seus polissacarídeos, utilizados especialmente nas indústrias alimentícia e farmacêutica.

a) **Alginas**: o ácido alginico é uma mistura de poliuronídeos lineares, com diversas proporções de ácido D-manurônico, com ligações β -(1 $\rightarrow$ 4) (MM) e ácido L-gulurônico, com ligações α -(1 $\rightarrow$ 4) (GG), formando polímeros de bloco MM e GG, como unidade de repetição periódica, intercaladas por blocos mistos MG. De acordo com as monografias oficiais contém, no mínimo, 19% e, no máximo, 25% de grupos carboxílicos, calculados sobre a substância dessecada. Estes heteropolissacarídeos são obtidos, principalmente, de algas da classe Phaeophyceae, especialmente das ordens Fucales e Laminariales, dos gêneros *Laminaria* e *Macrocystis*. O teor de ácido alginico, nas algas, varia

de 12 a 40%. O ácido algínico, insolúvel em água, possui caráter aniônico acentuado que permite a formação de sais solúveis de sódio, potássio e amônio e sais insolúveis de cálcio. O ácido algínico e os alginatos formam géis viscosos e, desta forma, atuam como protetores da mucosa gástrica, sendo incorporados em preparações destinadas ao tratamento sintomático de problemas como refluxo gastro-esofágico, hérnias de hiato e esofagites. Alguns alginatos são empregados como adjuvantes em regimes hipocalóricos, já que são limitadamente digeríveis e com dose máxima diária de 25 mg/kg de peso corpóreo. Também são utilizados como anti-hemorragicos de uso externo por formarem géis fibrilares, provocando rápida homeostase, através da sua precipitação local ao captar íons cálcio. Além disto, atuam como espessantes e estabilizantes em produtos farmacêuticos e em alimentos (Bruneton, 1993; Hänsel et al., 1999).

b) **Carragenanos:** esses polímeros de galactose fortemente sulfatados são obtidos de diferentes espécies de algas rodofíceas dos gêneros *Chondrus* e *Gigartina*. Estes sulfatos de galactanas lineares são constituídos por unidades de repetição periódicas oriundas da ligação de α -(1→4)-D-galactose e β -(1→3)-D-galactose, possuindo padrão de substituição diversificado. Os carragenanos têm aplicação terapêutica e dietética no tratamento sintomático da constipação, como mucoprotetor em proctologia e adjuvante em dietas hipocalóricas, devido à não ser absorvidos no trato gastrointestinal. Carragenanos com massa molecular inferior a 50.000, por outro lado, são absorvíveis e possuem alta toxicidade. Nas indústrias farmacêutica, cosmética e alimentícia são utilizados como espessantes, gelificantes e estabilizantes (Bruneton, 1993).

c) **Ágar-ágar:** poligalactanos lineares de característica ácida obtidos de algas rodofíceas dos gêneros *Gelidium*, *Gracilaria*, *Gelidiella* e *Pterocladia*. A estrutura básica, denominada de agaróide, é constituída por unidades β -(1→3)-D-galactose e α -(1→4)-L-galactose alternadas, possuindo padrões de substituição variáveis, de acordo com a fonte vegetal utilizada e o procedimento de obtenção. Esses polissacarídeos dispersam-se coloidalmente em meio aquoso a quente, formando, por resfriamento, um gel espesso não absorvível, não fermentável, atóxico, utilizado como laxativo mecânico devido à capacidade de aumentar o volume e hidratação do bolo fecal, regularizando o trânsito intestinal. Contudo, a principal utilização deste produto é como base para meios de cultura, embora tenha emprego farmacêutico como desintegrante em comprimidos (Bruneton, 1993; Hoepfner et al., 2002).

Os agaróides diferenciam-se, estruturalmente, quanto ao teor de radicais sulfato, restos piruvato e outros substituintes (Hänsel et al., 1999).

d) **Fucanos:** são polissacarídeos sulfatados com alto teor de fucose, obtidos de espécies de *Fucus*, especialmente, *Fucus vesiculosus* L. A cadeia principal é formada por α -(1→2)-L-fucose-4-sulfato, possuindo, na posição 3,

ramificações ou um segundo grupo sulfato. Similarmente à heparina, apresenta ação anticoagulante e antitrombótica, devido ao seu efeito fibrinolítico (Hänsel et al., 1999).

III) Polissacarídeos de vegetais superiores

a) Polissacarídeos homogêneos

1. Amido: é uma substância de reserva constituída por moléculas de glicose, ligadas através de ligações $\alpha(1 \rightarrow 4)$, para formar um polímero linear (amilo-se) com baixo grau de ramificação (0,3 a 0,5%), de configuração helicoidal, ou através de ligações $\alpha(1 \rightarrow 4)$ e $\alpha(1 \rightarrow 6)$, formando amilopectina, altamente ramificada. A amilose e a amilopectina podem aparecer em diferentes proporções, dependendo da origem do amido. O aquecimento em água torna os grânulos de amido intumescidos, rompendo a estrutura cristalina, num processo denominado gelificação, o que torna os polímeros mais vulneráveis ao ataque da α -amilase. O resfriamento permite que parte do amido modifique sua estrutura tridimensional, formando amido resistente, que passa inalterado através do intestino delgado (Topping, 1991; Bruneton, 1993; Spiller, 1994).

Amido resistente: até recentemente considerava-se que o amido era completamente hidrolisado devido à presença das amilases salivar e pancreática e, na forma de glicose, era, então, absorvido. Entretanto, certos alimentos, como batata, milho e banana, contém este tipo amido, que resiste, parcialmente, à hidrólise enzimática, não sendo totalmente digerido no intestino delgado (Tomlin e Read, 1990; Spiller, 1994). O amido resistente é constituído por amilose "retrógrada", na qual a molécula é dobrada sobre si mesma tornando as ligações $\alpha(1 \rightarrow 4)$ inacessíveis às α -amilases, e amilopectina "retrógrada". Essa última é parcialmente digerível no intestino delgado, enquanto que a primeira é totalmente resistente. O amido que resiste à ruptura no intestino delgado passa ao intestino grosso onde atua de maneira similar aos polissacarídeos solúveis (Tomlin e Read, 1990; Kasaoka et al., 1997). Desta forma, esses carboidratos servem como substrato para as bactérias, estimulando seu crescimento e gerando produtos finais de fermentação, como ácidos graxos de cadeia curta e gases, que afetam a motilidade do cólon (Brown et al., 1979; Tomlin e Read, 1990; Waitzberg et al., 1990; Spiller, 1994). Assim, o amido resistente contribui para a manutenção da função normal do cólon (Tomlin e Read, 1990). Mais recentemente, Hospers et al. (1994) e Heijnen et al. (1995) demonstraram que a ingestão de amido contendo elevados teores de amilose, diminui significativamente a glicemia pós-prandial e a secreção de insulina e promove maior saciedade em relação ao amido com alto percentual de amilopectina. Kasaoka et al. (1997) também observaram diminuição significativa nas concentrações pós-prandiais de glicose e na secreção de insulina em ratos entubados com uma suspensão de amido de milho rico em amilose, quando comparados com ratos entubados com uma suspensão de amido

de milho comum. Esses resultados sugerem que a restrição na densidade energética, na dieta ou em alimentos específicos, promovida pelo amido resistente, e citado também para fibras alimentares, é um dos modos pelos quais agem sobre certas doenças. Nesse respeito, a ingestão por um longo tempo de amido resistente poderia ser benéfica na prevenção de doenças relacionadas com obesidade, tais como câncer de mama (Kazaoka et al., 1997) e *Diabetes mellitus* não insulina-dependente (Spiller, 1994).

O emprego do amido na área farmacêutica, tanto na forma natural, como após modificações químicas e físicas, está limitado às formas farmacêuticas sólidas, como aglutinante, desintegrante, diluente ou material de carga e enchimento (ver cap. “Produtos de origem vegetal e o desenvolvimento de medicamentos”).

A amilose, por ação de enzimas de *Bacillus macerans*, forma estruturas cíclicas, compostas de 6 a 8 unidades, chamadas de ciclodextrinas, de grande interesse farmacêutico (Duchêne, 1987, Bruneton, 1993).

2. Celulose: é encontrada ligada fortemente a outros constituintes da parede celular, sendo o principal constituinte das plantas; é formada por um polímero linear de glicose, constituído em média por 10.000 unidades, insolúvel em água e com limitada capacidade de retenção hídrica. As moléculas glicídicas na celulose apresentam um arranjo das ligações de forma a resistirem à hidrólise enzimática (Bruneton, 1993). É a mais importante matéria-prima farmacêutica, sendo empregada desde a confecção de compressas (gaze, algodão) até derivados quimicamente modificados (ésteres e éteres de celulose), como adjuvantes na obtenção das mais variadas formas farmacêuticas (Lima Neto e Petrovick, 1997).

3. Hemiceluloses: as hemiceluloses são polímeros complexos, não-pécticos e não-celulósicos, homo ou heteropolissacarídicos (arabinoxilanos, galactomananos, galactanos ácidos, glicuronoarabinogalactanos). São macromoléculas extremamente complexas e quimicamente variáveis, muito menos resistentes à digestão do que a celulose (Schneeman, 1986; Waitzberg et al., 1990; Rombi, 1991; Bruneton, 1993; Spiller, 1994).

4. Frutanos: estes poli- β -D-frutofuranoses, também denominados de frutanos, são substâncias de reserva, substituindo o amido, em vegetais superiores. Normalmente possuem GP até 50. De acordo com as ligações os frutanos podem ser divididos em tipo *inulina*, com ligações β -(1 $\rightarrow$ 2), tipo *levano*, ligações β -(2 $\rightarrow$ 6) e tipos mistos, com β -(1 $\rightarrow$ 2) na cadeia principal e β -(2 $\rightarrow$ 6) nas cadeias laterais. A inulina é o principal representante desta classe, distribuindo-se especialmente nas Asteraceae plurianuais, onde, assim como nas Campanulaceae, se encontra nos órgãos subterrâneos, com teores que alcançam até 70 % da massa seca. Em Boraginaceae, por sua vez, distribuem-se em todos os órgãos. Estes polissacarídeos são obtidos, industrialmente, de *Cichorium intybus* L., de *Helianthus tuberosus* L. e de *Taraxacum officinale* Weber ex F.H.Wigg., da família Asteraceae (Bruneton, 1993; Hänsel et al., 1999).

b) Polissacarídeos heterogêneos

1. **Gomas:** são compostos de alto peso molecular, de natureza polissacarídica, parcial ou totalmente dispersíveis em água e insolúveis em solventes apolares. Essas substâncias ocorrem em certos órgãos da planta, como caule e raízes e são resultantes de lesões sofridas pelo vegetal devido a traumatismos e ação de microorganismos. Em outros casos, a formação de gomas parece estar relacionada a um processo de adaptação do vegetal a certas condições climáticas, constituindo a chamada "gomose fisiológica". Quimicamente, as gomas são caracterizadas por apresentarem sempre ácidos urônicos, além de açúcares comuns. As principais gomas, do ponto de vista econômico e industrial, são: *goma arábica* (produzida por *Acacia senegal* (L.) Willd. e outras espécies do gênero, família Mimosaceae), *goma caraia* (extraída de *Sterculia tomentosa* Guill. et Perr. e *Sterculia urens* Roxb., família Sterculiaceae ou de *Cochlospermum gossypium* (L.) DC., família Bixaceae), *goma gati* obtida de *Anogeissus latifolia* (Roxb. ex DC.) Wall. ex Bedd., família Combretaceae, e *goma adraganta* extraída de *Astracantha gummifera* (Labill.) Podl. (sin. *Astragalus gummifer* Labill.), família Fabaceae (Lopes et al., 1991; Bruneton, 1993; Robbers et al., 1996).

Uma das gomas mais utilizadas, a *goma arábica*, é o produto exsudado pelo tronco de espécies do gênero *Acacia*, espontâneas e cultivadas em diversas regiões tropicais e sub-tropicais. O material aparece nas árvores sob forma de fragmentos irregulares ou ovóides de dimensões variadas, incolores ou levemente amarelados, duros e friáveis. O constituinte majoritário é um polissacarídeo ácido, com ramificações complexas, constituído de *D*-galactose (32%), *L*-arabinose (38%), ácido *D*-glicurônico (18%) e *L*-ramnose (12%) (Bruneton, 1993).

2. **Mucilagens:** ao contrário das gomas, as mucilagens são constituintes naturais do vegetal, não sendo indicativas de alterações patológicas da planta. Ocorrem, predominantemente, em sementes, nas quais parecem ter a função de retenção de água para auxiliar na germinação, mas podem ocorrer também em outros órgãos do vegetal. Essas substâncias podem ser divididas em neutras e ácidas. As mucilagens neutras, como é o caso do *guar*, são compostas por açúcares comuns, enquanto que as mucilagens ácidas apresentam, à semelhança das gomas, ácidos urônicos em sua composição. Essas substâncias podem ser obtidas de algas ou de vegetais superiores. O *guar*, obtido do endosperma das sementes de *Cyamopsis tetragonolobus* Taub., família Fabaceae, é a mucilagem mais estudada e, até o momento, a de maior importância do ponto de vista econômico. É um polissacarídeo extremamente ramificado formado por uma cadeia de resíduos manopiranosídicos ligados entre si por ligações $\beta(1 \rightarrow 4)$ e substituídos por moléculas de galactose ligadas em $\beta(1 \rightarrow 6)$. É, portanto, um *D*-galacto/*D*-manano que apresenta a característica de formar dispersões altamente viscosas quando em contato com água, mesmo em

pequenas concentrações, com baixa afinidade por cátions, mas que pode interagir com cálcio e elementos-traço. A propriedade das mucilagens de reter água explica a sua ação laxativa, ao formar um bolo fecal volumoso, permanentemente túrgido, evitando a absorção de água através das paredes dos intestinos e o endurecimento das fezes, ao mesmo tempo que excitam, por via reflexa, as contrações intestinais. No entanto, em certos casos, atuam como antidiarréicos, devido à sua natureza coloidal, impedindo a ação de substâncias irritantes e até de bactérias sobre a mucosa (Jenkins et al., 1978b; Dykes e Hodgson, 1981; Schneeman, 1986; Tulung et al., 1987; Todd et al., 1990; Rombi, 1991; Bruneton, 1993; Spiller, 1994; Robbers et al., 1996).

Outra mucilagem bastante utilizada é a “goma” *carouba*, retirada das sementes de *Ceratonia siliqua* L., família Caesalpiniaceae, pequena árvore comum na região do Mediterrâneo. Essa mucilagem tem a propriedade de intumescer em presença de água e formar um gel que não é absorvido pelo organismo, diminuindo a assimilação dos alimentos, por formar uma película densa em volta dos mesmos e impedir a ação das enzimas responsáveis pela digestão (tripsina, quimiotripsina, amilase e lipase). Quando administrada antes das refeições, diminui a sensação de fome por suas propriedades espessantes, dando a sensação de plenitude gástrica. É também usada em casos de vômitos de recém-nascidos (Bruneton, 1993).

3. Pectinas: pectinas (do latim *pectos* = geléia) são macromoléculas glicídicas, constituintes da lamela média das paredes celulares do vegetal, abundantes em frutos, principalmente, cítricos. Quimicamente, são polímeros do ácido galacturônico, podendo apresentar intercalações de ramnose, ramificações contendo galactose, arabinose ou xilose e, ainda, podem estar esterificadas por metanol. A esterificação apresenta grande importância na determinação da dispersibilidade em água e viscosidade, intensificando essas características. Apresentam considerável capacidade retentora de água, são facilmente gelificáveis e, em virtude de seus grupos carregados negativamente, ligam-se a cátions e ácidos biliares. Pectinas com alto grau de metoxilação gelificam através da formação de pontes de hidrogênio, enquanto pectinas com baixo grau de metoxilação o fazem por ligação iônica (principalmente por interação com cálcio) (Schneeman, 1986; Bruneton, 1993). As pectinas são utilizadas especialmente como reguladores do sistema gastrointestinal e, na indústria alimentícia, como estabilizante e gelificante. A utilização regular de pectinas tem demonstrado sua eficácia no controle de glicemia e colesterolemia e na prevenção de doenças cardiovasculares (Jenkins et al., 1977a e b; Rombi, 1991; Bruneton, 1993; Spiller, 1994; Fernandez, 1995; Diez et al., 1996).

4. PROPRIEDADES DOS POLISSACARÍDEOS

Certas propriedades apresentadas por vários polissacarídeos são importantes para explicar determinadas respostas fisiológicas provocadas por estas substâncias. Abaixo, serão citadas algumas destas importantes propriedades.

a) Degradação bacteriana: certos polissacarídeos não podem ser enzimaticamente degradados no intestino delgado de mamíferos. No entanto, eles são fermentáveis no intestino grosso e seu grau de degradação varia enormemente. Por exemplo, pectinas, mucilagens e gomas parecem ser completamente fermentadas, enquanto que a celulose o é apenas parcialmente. A fermentação é o processo pelo qual a molécula sofre a ação das enzimas bacterianas, sendo parcial ou completamente degradada no intestino grosso, em condições anaeróbicas. A ação bacteriana é mais intensa no intestino grosso, que possui cerca de 10^{11} microorganismos por grama de bolo fecal. Esses microorganismos contribuem para a formação de gases (H_2 , O_2 , CO_2 , CH_4 e NH_3), ácidos (lático, acético e outros) e ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), que são absorvidos no cólon e utilizados como fonte de energia, seguindo pela circulação entero-hepática (Salyers et al., 1985; Schneeman, 1986; Topping, 1991; Eastwood e Morris, 1992; Campbell et al., 1997).

Ácidos graxos de cadeia curta: as hexoses são clivadas a piruvato, que é reduzido, originando propionato ou convertido a acetil-CoA, num processo que gera NADH. A acetil-CoA pode, então, ser reduzida, formando butirato, ou hidrolisada, originando acetato. O acetato é, quantitativamente, o mais importante produto endógeno da fermentação de polissacarídeos. Apesar de todos os polissacarídeos produzirem acetato como principal produto endógeno, há diferenças na razão propionato/butirato, *in vitro*. Ramnose, arabinose e xilose tendem a produzir mais propionato, enquanto que sorbitol, ribose, ácido galacturônico e ácido glicurônico produzem mais butirato (Wright et al., 1990; Spiller, 1994; Sunvold et al., 1995; Campbell e Fahey Jr., 1997). A predominância de um determinado ácido graxo de cadeia curta vai influenciar nos efeitos metabólicos dos polissacarídeos (Wright et al., 1990; Levrat et al., 1994).

A extensão da degradação bacteriana pode estar relacionada com algumas implicações importantes: os AGCC, subprodutos da fermentação, podem influenciar as respostas fisiológicas aos próprios polissacarídeos; a fermentação pode diminuir o pH no intestino grosso e afetar o metabolismo microbiano; resíduos bacterianos podem ser responsáveis por uma porção significativa do peso fecal e, então, contribuir para o aumento do volume fecal (Salyers et al., 1985; Schneeman, 1986; Topping, 1991; Eastwood e Morris, 1992; Campbell e Fahey Jr., 1997).

b) Capacidade de retenção hídrica: essa propriedade é muito relevante e advém da presença de açúcares com grupamentos polares livres. As pectinas, as mucilagens e, em menor extensão, as hemiceluloses, apresentam, todas, uma grande capacidade de retenção hídrica. A hidratação das molé-

culas resulta na formação de uma matriz tipo gel, a qual pode conduzir a uma maior viscosidade do conteúdo do intestino delgado e apresentar, então, efeitos críticos na absorção de nutrientes. Presumivelmente, esta absorção é retardada pela difusão desses nutrientes hidrossolúveis na matriz gelatinosa e pelo aumento da viscosidade do conteúdo intestinal (Schneeman, 1986; Eastwood e Morris, 1992)

c) Adsorção de moléculas orgânicas: os ácidos biliares, o colesterol e alguns compostos tóxicos são adsorvidos, especialmente, pelas pectinas e outros polissacarídeos ácidos. A adsorção de ácidos biliares por polissacarídeos pode ser medida *in vivo* através da capacidade desses compostos em aumentar a excreção fecal destes ácidos e de esteróides neutros. A habilidade em elevar a excreção fecal de ácidos biliares está correlacionada com o efeito hipocolesterolemizante de certos polissacarídeos dispersíveis, não-celulósicos, tais como pectinas e goma guar. Ainda que essa propriedade não tenha sido estudada adequadamente, a capacidade desses polissacarídeos em captar/adsorver potenciais agentes carcinogênicos tem sido proposta como um dos mecanismos protetores contra câncer de cólon e reto (Schneeman, 1986; Eastwood e Morris, 1992).

d) Troca de cátions: a disponibilidade reduzida de alguns minerais e a baixa absorção de eletrólitos associadas à ingestão de alguns polissacarídeos estão diretamente relacionadas com a capacidade em trocar cátions, apresentada por essas moléculas. O número de grupamentos carboxílicos nos açúcares e o conteúdo de ácido urônico dos polissacarídeos parecem estar relacionados com as propriedades de troca iônica dos mesmos (Schneeman, 1986; Eastwood e Morris, 1992).

5. IMPACTO FISIOLÓGICO DOS POLISSACARÍDEOS

A tabela 3 mostra o efeito fisiológico dos polissacarídeos em diversos órgãos.

TABELA 3
Impacto fisiológico dos polissacarídeos em diversos órgãos

Órgãos	Efeitos Fisiológicos
Estômago e duodeno	Retardamento do esvaziamento gástrico; redução do pH do suco duodenal; aumento da viscosidade do suco duodenal e aumento da saciedade pós-prandial.
Intestino delgado e cólon	Alteração da velocidade do trânsito intestinal; diminuição da absorção de Zn, Fe, Ca, Mg e P; aumento do volume fecal; aumento do número de bactérias; redução da pressão do lúmen intestinal e alterações em atividades enzimáticas.
Pâncreas	Redução da secreção da lipase e da amilase.
Fígado	Aumento da excreção de sais biliares e redução dos níveis de colesterol.

6. APLICAÇÕES CLÍNICAS DE POLISSACARÍDEOS

a) Supressão do apetite: alimentos fibrosos são de digestão mais lenta e resultam numa maior e mais duradoura sensação de saciedade. Essa característica tem sido aproveitada terapeuticamente na adição de algumas gomas, mucilagens e pectinas à dieta (Spiller, 1994; Lairon, 1996).

b) Retardamento do esvaziamento gástrico: procedimentos como gastrectomia (excisão parcial do estômago) ou gastroenterostomia (excisão parcial do estômago e intestino) podem, num pequeno número de pacientes, produzir uma síndrome caracterizada por um esvaziamento rápido do conteúdo gástrico, associada a uma rápida elevação da glicose sanguínea e seguida por uma hipoglicemia "rebote". A entrada precipitada de glicose e outras moléculas de baixo peso molecular no intestino delgado está também associada ao rápido influxo de fluidos para o jejuno, seguindo gradientes osmóticos e levando a uma perda de fluido do compartimento plasmático. Retardar o esvaziamento gástrico e diminuir a absorção de glicose dos alimentos, através da ingestão de pectinas, pode prevenir esta hipoglicemia e, através do retardamento do trânsito para o ceco, prevenir a má absorção de glicose (Eastwood e Morris, 1992; Spiller, 1994).

c) Prevenção de câncer colo-retal: a alta incidência de câncer de intestino em populações submetidas a dietas pobres em fibras tem estimulado a proposição de muitas teorias. Inicialmente, a ação de certos polissacarídeos na prevenção de câncer colo-retal era atribuída à diluição e redução do tempo de permanência de potentes substâncias carcinogênicas no intestino e à diminuição, por degradação bacteriana, da concentração de ácidos biliares, com potencial ação carcinogênica. Mais recentemente, as atenções têm sido direcionadas para a alteração na biodisponibilidade do butirato (AGCC) luminal, que tem importante influência sobre a proliferação dos colonócitos (células do cólon) (Spiller, 1994; Diez et al., 1996; Campbell e Fahey Jr., 1997; Reddy, 1999; Levi et al., 2001).

d) Prevenção de câncer de ovário: recentemente, em estudo desenvolvido por Pelucchi et al. (2001), foi demonstrada uma relação inversa entre o consumo de diversas fibras alimentares e o risco de desenvolvimento de câncer de ovário. Segundo esses autores, essa relação inversa pode estar relacionada, entre outros fatores, ao aumento da excreção e conseqüente menor biodisponibilidade de estrogênio na circulação. No entanto, ainda não foi estabelecido se esse efeito não estaria relacionado a outros componentes frequentes em dietas ricas em fibras alimentares tais como vitaminas antioxidantes e outras substâncias vegetais que podem influenciar favoravelmente na prevenção da carcinogênese.

e) Efeito hipocolesterolêmico: um dos efeitos potencialmente mais importantes de dietas ricas em polissacarídeos heterogêneos é a capacidade de redução nos níveis séricos de colesterol (Favier et al., 1995; Truswell, 1995). Esse

efeito se deve à aceleração do trânsito colônico, ao aumento da excreção de ácidos biliares e, principalmente, à redução da absorção de colesterol, mediada pela viscosidade do bolo alimentar (Gallagher et al., 2000). Além disso, a fermentação leva à produção de AGCC que podem (particularmente o propionato) inibir a síntese hepática de colesterol (Spiller, 1994 e 1996; Diez et al., 1996).

f) Redução dos níveis de uréia plasmática na insuficiência renal crônica: na insuficiência renal crônica (IRC), a excreção urinária de uréia, creatinina, ácido úrico e outros metabólitos é deficiente, desenvolvendo-se uremia. Entre as intervenções que podem retardar a evolução da doença destacam-se, além de um rigoroso controle da pressão arterial, a dieta hipoprotéica e, mais recentemente, o uso de alguns polissacarídeos fermentáveis. O emprego desses últimos propicia a diminuição das concentrações de uréia, atenuando os sintomas clínicos e retardando a progressão da doença (Younes et al., 1995; Bliss et al., 1996). A utilização de polissacarídeos mostra-se eficiente na redução da azotemia, por impedir a absorção de metabólitos protéicos e servir como veículo para a eliminação destes nas fezes e, especialmente, por promover a fermentação, processo através do qual as bactérias colônicas utilizam o nitrogênio endógeno e exógeno para sua síntese protéica. Esse procedimento, entretanto, é mais efetivo quando os polissacarídeos são administrados concomitantemente a uma dieta hipoprotéica, uma vez que, na ausência de excedentes de proteínas, as bactérias utilizam a uréia plasmática como fonte de nitrogênio. O mesmo efeito também pode ser obtido pela administração de certos oligossacarídeos não digeríveis. Desta forma, uma dieta rica em oligossacarídeos e/ou polissacarídeos fermentáveis, visando aumentar a excreção fecal de metabólitos nitrogenados em pacientes com IRC, pode ser uma terapia adjunta benéfica (Rémésy e Demigné, 1989; Bliss et al., 1996; Grizard e Barthomeuf, 1999).

7. EFEITOS ADVERSOS

Embora não sejam digeridos pelo aparelho digestivo humano, os polissacarídeos não são desprovidos de efeitos adversos. Tais efeitos manifestam-se, de modo geral, como distúrbios no trato gastrointestinal, principalmente, dores abdominais, náuseas e flatulência, provocadas pelos produtos da degradação microbiana dos polissacarídeos (AGCC, gás carbônico, hidrogênio e metano). A capacidade desses polissacarídeos em trocar íons, além de importante para explicar a teoria de ligação aos ácidos biliares, que promove seu efeito hipocolesterolemizante, pode também estar relacionada à reduzida biodisponibilidade de alguns minerais, tais como zinco, ferro e cálcio, e à diminuição da absorção de alguns eletrólitos, conduzindo à elevada excreção fecal desses compostos. Vitaminas, tais como o ácido ascórbico (vitamina C) e a cianocobalamina (vitamina B12), podem ter sua absorção prejudicada de forma considerável. A propriedade dos polissacarídeos de modular a resposta glicêmica pode provocar,

em indivíduos não-diabéticos, hipoglicemia. A absorção de proteínas pode, também, ser prejudicada. O uso de modo indevido de polissacarídeos que formam dispersões viscosas, por exemplo em dosagem acima daquela recomendada, pode originar obstruções esofageana, gástrica ou do intestino delgado (Schneeman, 1986; Reiser, 1987; Silverman, 1989; Todd et al., 1990; Kennedy et al., 1993; Spiller, 1994; Campbell e Fahey Jr., 1997).

Efeitos como flatulência, desconforto abdominal e náuseas, apesar de transitórios, desaparecendo à medida que o tratamento prossegue, podem fazer com que a terapia seja interrompida ou que a quantidade administrada de polissacarídeo seja reduzida, em virtude da intensidade dos mesmos (Todd et al., 1990).

8. INTERAÇÕES MEDICAMENTOSAS

Os polissacarídeos não-amiláceos interagem com vários fármacos, tais como paracetamol, clindamicina e bumetanida (anti-inflamatório não-esteróide), retardando a absorção dos mesmos. Além disso, alguns outros fármacos como fenoximetilpenicilina, metformina (hipoglicemiante oral do grupo das biguanidas), contraceptivos orais, propranolol e algumas formas farmacêuticas contendo glibenclamida (hipoglicemiante oral do grupo das sulfoniluréias) podem ter sua absorção reduzida. Estudos demonstraram que uma mistura contendo caulim e pectina, ao ser administrada simultaneamente com tetraciclina ou digoxina, leva a uma redução da biodisponibilidade desses fármacos (20 a 50% e cerca de 60%, respectivamente). A lincomicina parece ser adsorvida, irreversivelmente, por uma suspensão de caulim e pectina, a julgar pela redução de 90% da biodisponibilidade relativa deste antibiótico (Jaffe et al., 1971; Albert et al., 1978a e 1978b; Todd et al., 1990; Gouda, 1993; Neubert et al., 1995).

A administração simultânea de goma guar e de trimetoprima provoca uma redução da absorção desse fármaco. A quinidina também pode ter sua absorção diminuída quando for administrada concomitantemente com suspensão contendo caulim e pectina. Nesse caso, acredita-se que o principal responsável seja o caulim, embora a pectina aumente a eficiência do fenômeno de adsorção do fármaco. A amoxicilina tem sua velocidade de absorção alterada, sendo, quantitativamente, absorvida em menor grau quando administrada juntamente com pectinas (Lutz et al., 1987; Moustafa et al., 1987; Anônimo, 1988).

Embora as interações entre polissacarídeos e outros fármacos não sejam poucas e, em alguns casos, dotadas de um certo significado terapêutico, a maior parte delas, por envolverem processos de adsorção, pode ser evitada através da ingestão intercalada dos medicamentos e dos polissacarídeos. Em alguns outros casos, como por exemplo, com a digoxina, a substituição da forma far-

macêutica pode diminuir esse efeito dos polissacarídeos. A redução de 6 a 7 % na absorção de digoxina em cápsulas é menor do que aquela relatada para comprimidos (Albert et al., 1978b; Johnson et al., 1987; Silverman, 1989).

9. DROGAS VEGETAIS CLÁSSICAS

PLANTAGO

Nome científico: *Plantago ovata* Forssk. e *Plantago psyllium* L.

Família: Plantaginaceae

Parte usada: sementes

Monografias farmacopéicas:

Plantago ovata Forssk. (sin. *P. ispaghula* Roxb.) DAB 1998

Plantago psyllium L. (sin. *P. afra* L.) [*Psyllii semen*] Ph. Eur., DAB 1998, Ph. Franç. X

Dados químicos:

O tegumento das sementes é particularmente rico em polissacarídeos (10 a 30%) do tipo xilano, constituídos por ácido galacturônico, galactose, arabinose, glicose e ramnose. A mucilagem pode ser separada em polímeros neutros e ácidos. As partes aéreas e raízes de diversas espécies do gênero contêm iridóides (aucubina e catapol) (WHO, 1999).

Dados farmacológicos:

As sementes de *plantago* são classificadas como laxativas e seu efeito, confirmado por ensaios clínicos, baseia-se no aumento do volume das fezes por absorção de água, estimulando o peristaltismo. Apresenta contra-indicações em casos de obstrução intestinal e quando houver dificuldade de ajuste da administração de insulina. Além disto é capaz de diminuir a absorção de alguns minerais, inclusive sais de lítio, vitamina B₁₂, glicosídeos cardíacos, derivados de cumarinas e carbamazepina (WHO, 1999).

ALTÉIA

Nome científico: *Althaea officinalis* L.

Família botânica: Malvaceae

Parte usada: folhas e raízes

Monografias farmacopéicas: Pharm. Bras. I, DAB 1998, OAB, 1983, Ph. Eur., 1998

A altéia é uma erva perene de distribuição ampla, com cultivo extensivo na Europa. Mesmo assim, encontra-se na lista de vegetais em extinção (Lange e Schippmann, 1997). O nome vem do grego *altho*, que significa cura (Blumenthal et al., 2000). As raízes devem ser coletadas após um crescimento de dois anos do vegetal. Encontram-se monografias positivas para as partes usadas, editadas pela Comissão E da Alemanha, citando seu emprego no alívio da irritação local das mucosas da boca e faringe (Blumenthal, 1998).

Dados químicos:

Para as folhas secas é relatada a presença de polissacarídeos (6 a 9%) das classes dos arabino-galactanos e galacturono-ramnanos, enquanto que para as raízes secas, de 6,12 a 11,6% de polissacarídeos das classes dos arabino-galactanos, arabinanos e galacturono-ramnanos. A fração contendo ácido urônico é a responsável pela viscosidade dos extratos aquosos da droga (Hänsel et al., 1999). É ainda relatada, nas folhas, a presença de flavonóides, ácidos fenólicos, taninos e óleos voláteis e, nas raízes carboidratos (amido e pectina), glicosídeos flavonóides e açúcares (Blumenthal et al., 2000).

Dados farmacológicos:

O emprego da altéia é embasado em avaliações etnofarmacológicas e ensaios *in vitro* e *in vivo* em animais.

MALVA

Nome científico: *Malva sylvestris* L.

Família botânica: Malvaceae

Parte usada: flores e folhas

Monografias farmacopéicas: DAC 1998, Ph. Eur., Ph. Franç. X, F.Bras. IV

Preparações das flores e folhas dessecadas de malva, especialmente na forma de infusos, são empregadas na redução e/ou alívio do estímulo do catarro das vias respiratórias superiores e em estados inflamatórios das mucosas bucal e faríngea (Hänsel et al., 1999).

Dados químicos:

Os polissacarídeos, em concentrações de 5 a 10%, são semelhantes aos encontrados para as demais Malvaceae (ver altéia). Para as flores é relatada a presença de flavonóides, antocianidinas e leucoantocianidinas. Nas folhas foram detectados flavonóides sulfatados (Hänsel et al., 1999).

Dados farmacológicos:

Avaliações farmacológicas realizadas especificamente com infusos de malva são raras, baseando-se, principalmente na correlação dos constituintes presentes.

LINHO

Nome científico: *Linum usitatissimum* L.

Família botânica: Linaceae

Parte usada: sementes íntegras

Monografias farmacopéicas: Ph. Eur., DAB 1997

Dois variedades da planta são cultivadas na Europa: para obtenção de fibras têxteis e para a obtenção de sementes. Estas últimas são muito utilizadas para a obtenção do óleo de linhaça e em panificação. A Comissão E editou monografia positiva para as sementes de linho com indicações para uso interno em constipação crônica, irritação do cólon e diverti-

culite e, para uso externo, como cataplasma, em estados inflamatórios locais (Blumenthal, 1998).

Dados químicos:

As sementes de linho (linhaça) contêm óleos fixos (35 a 45%), constituído de 52 a 76% por ácido linolênico, proteínas (20 a 25%) e mucilagens (3 a 10%). A mucilagem é constituída de um arabinoxilano muito ramificado, composto de ácido D-galacturônico e manurônico, D-galactose, L-ramanose, D-xilose e L-arabinose (Hänsel et al., 1999).

Dados farmacológicos:

Embora as indicações principais das sementes de linho sejam baseadas em estudos etnofarmacológicos, os principais ensaios clínicos avaliam efeitos anticarcinogênico, na redução do risco de aterosclerose associado a hiperlipemia e suas propriedades nutricionais (Blumenthal et al., 2000).

10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBERT, K. S.; AYRES, J. W.; DISANTO, A. R.; WEIDLER, D. J.; SAKMAR, E.; HALLMARK, M. R.; STOLL, R. G.; DESANTE, K. A.; WAGNER, J. G. Influence of kaolin-pectin suspension on digoxin bioavailability. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 67, n. 11, p. 1582-1586, 1978a.
- ALBERT, K. S.; DESANTE, K. A.; WELCH, R. D.; DISANTO, A. R. Pharmacokinetic evaluation of drug interaction between kaolin-pectin and clindamicin. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 67, n. 11, p. 1579-1582, 1978b.
- ANÔNIMO Trimethoprim and food, guar. *Australian Journal of Pharmacy*, v. 69, n. 9, p. 622, 1988.
- BACON, E. Role of dietary fibre. *Canadian Pharmaceutical Journal*, v. 112, p. 307-310, 1979.
- BLISS, D. Z.; STEIN, T.P.; SCHLEIFER, C.R.; SETTLE, R.G. Supplementation with gum arabic fiber increases fecal nitrogen excretion and lowers serum urea nitrogen concentration in chronic renal failure patients consuming a low-protein diet. *American Journal of Clinical Nutrition*, v. 63, n. 3, p. 392-398, 1996.
- BLUMENTHAL, M. (ed.) *The Complete German Commission E Monographs*. Austin: American Botanical Council, 1998.
- BLUMENTHAL, M.; GOLDBERG, A.; BRINCKMANN (ed.) *Herbal medicine*. Austin: American Botanical Council, 2000.
- BOISSON, V.C.; HAROUN, F.; ELLOUALI, M.; BLONDIN, C.; JOZEFONVICZ, J.. Biological activities of polysaccharides from marine algae. *Drugs of the Future*, v. 20, p. 1237-1249, 1995.
- BROWN, R. C.; KELLEHER, J.; LOSOWSKY, M. S. The effect of pectin on the structure and function of the rat small intestine. *British Journal of Nutrition*, v. 42, n. 3, p. 357-364, 1979.
- BRUNETON, J. *Pharmacognosie, phytochimie, plantes medicinales*. 2^{ème} ed. Paris: Lavoisier, 1993.
- CAMPBELL, J. M.; FAHEY JR., G. C. Psyllium and methylcellulose fermentation properties in relation to insoluble and soluble fiber standards. *Nutritional Research*, v. 17, n. 4, p. 619-629, 1997.

- CAMPBELL, J. M.; FAHEY JR., G. C.; WOLF, B. W. Selected indigestible oligosaccharides affect large bowel mass, cecal and fecal short-chain fatty acids, pH and microflora in rats. *Journal of Nutrition*, v. 127, p.130-136, 1997.
- DIEZ, F. G.; MEDIAVILLA, V. G.; BAYON, J. E.; GALLEGÓ, J. G. Pectin feeding influences fecal bile acid excretion, hepatic bile acid and cholesterol synthesis and serum cholesterol in rats. *Journal of Nutrition*, v. 126, p. 1766-1771, 1996.
- DUCHÊNE, D. (ed.) *Cyclodextrins and their industrial uses*. Paris: Santé, 1987.
- DYKES, V.; HODGSON, W. Guar gum is not a panacea in diabetes management. *New Zealand, Medicine Journal*, v. 93, n. 683, p. 292-294, 1981.
- EASTWOOD, M. A.; MORRIS, E. R. Physical properties of dietary fiber that Influence physiological function: a model for polymers along the gastrointestinal tract. *American Journal of Clinical Nutrition*, v. 55, p. 436-442, 1992.
- FAVIER, M. L.; MOUNDRAS, C.; DEMIGNÉ, C.; RÉMÉSY, C. Fermentable carbohydrates exert a more potent cholesterol-lowering effect than cholestyramine. *Biochimica et Biophysica Acta*, n. 1258, p. 115-121, 1995.
- FERNANDEZ, M.L. Distinct mechanisms of plasma LDL lowering by dietary fiber in the guinea pig: specific effects of pectin, guar gum, and psyllium. *Journal of Lipid Research*, v. 36, p. 2394-2404, 1995.
- GALLAHER, C M; MUNION, J; HESSLINK, R JR; WISE, J; GALLAHER, D. D. Cholesterol reduction by glucomannan and chitosan is mediated by changes in cholesterol absorption and bile acid and fat excretion in rats. *Journal of Nutrition*, v. 130, n. 11, p. 2753-2759, 2000.
- GALIBOIS, I.; DESROSIER, T.; GUÉVIN, N.; LAVIGNE, C.; JACQUES, H. Effects of dietary fibre mixtures on glucose and lipid metabolism and on mineral absorption in the rat. *Annals of Nutrition Metabolism*, v. 38, n. 4, p. 203-211, 1994.
- GOUDA, M. W. Effect of an antidiarrhoeal mixture on the bioavailability of tetracycline. *International Journal of Pharmacy*, v. 89, n. 1, p. 75-77, 1993.
- GRIZARD, D.; BARTHOMÉUF, C. Non-digestible oligosaccharides used as prebiotic agents: mode of production and beneficial effects on animal and human health. *Reproduction and Nutrition Development*, v. 39, n. 5-6, p. 563-588, 1999.
- HÄNSEL, R.; STICHER, O.; STEINEGGER, E. *Pharmakognosie - Phytopharmazie*. 6. Aufl. Berlin: Springer, 1999.
- HEIJNEM, M. L. A.; AMELSVOORT, J. M. M. VAN; WESTSTRATE, J. A. Interaction between physical structure and amylose: amylopectin ratio of foods on postprandial glucose and insulin responses in healthy subjects. *European Journal of Clinical Nutrition*, v. 49, p. 446-457, 1995.
- HOEPFNER, E.-M.; RENG, A.; SCHMIDT, P.C. (ed.) *Fiedler encyclopedia of excipients*. Aulendorf: Cantor, 2002.
- HOSPERS, J. J.; VAN AMELSVOORT, J. M. M.; WESTSTRATE, J. A. Amylose-to-amylopectin ratio in pastas affects postprandial glucose and insulin responses and satiety in males. *Journal of Food Sciences*, v. 59, n. 5, p. 1144-1149, 1994.
- JAFFE, J. M.; COLAIZZI, J. L.; BARRY III, H. Effects of dietary components on GI absorption of acetaminophen tablets in man. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 60, n. 11, p. 1646-1650, 1971.
- JENKINS, D. J. A.; LEEDS, A. R.; GASSUL, M. A.; COCHET, B.; ALBERT, G. M. M. Decrease in postprandial insulin and glucose concentrations by guar and pectin. *Annals of Internal Medicine*, v. 86, p. 20-23, 1977a.

- JENKINS, D. J. A.; LEEDS, A. R.; HOUSTON, H.; HINKS, L.; ALBERTI, K. G. M. M.; COMMINGS, J. H. Carbohydrate tolerance in man after six weeks of pectin administration. *Proceedings of the Nutrition Society*, v. 36, n. 2, p. 60A, 1977b.
- JENKINS, D. J. A.; WOLEVER, T. M. S.; NINEHAM, R.; TAYLOR, R.; METZ, G. L.; BACON, S.; HOCKADAY, T. D. R. Guar crispbread in diabetic diet. *British Medical Journal*, v. 2, p. 1744-1746, 1978b.
- JOHNSON, B. F.; RODIN, S. M.; HOCH, K.; SHEKAR, S. The effect of dietary fiber on the bioavailability of digoxin in capsules. *Journal of Clinical Pharmacology*, v. 27, p. 487-490, 1987.
- KASAOKA, S.; IKAI, M.; OH-HASHI, A.; MORITA, T.; KIRIYAMA, S. High amylose corn starch retarded and, 12-dimethylbenz[a]anthracene-induced mammary tumor development in female rats. *Nutrition Research*, v. 17, n. 6, p. 1035-1046, 1997.
- KENNEDY, D. L.; TANNER, L. A.; BARASH, D.; GOETSCH, R. A. National adverse drug event reporting. *American Journal of Hospital Pharmacy*, v. 50, n. 9, p. 1913-1914, 1993.
- LAIRON, D. Dietary fibres: effects on lipid metabolism of action. *European Journal of Clinical Nutrition*, v. 50, p. 125-133, 1996.
- LANGE, D.; SCHIPPMANN, U. *Trade Survey of Medicinal Plants in Germany*. Bonn: Bundesamt für Naturschutz, 1997.
- LEE, Y.S.; CHUNG, I.S.; LEE, I.R.; KIM, K.H.; HONG, W.S.; YUN, Y.S. Activation of multiple effector pathway of immune system by the antineoplastic immunostimulator acidic polysaccharide ginsan isolated from *Panax ginseng*. *Anticancer Research*, v. 17, p. 323-331, 1997.
- LEVI, F.; PASCHE, C.; LUCCHINE, F.; LA VECCHIA, C. Dietary fibre and the risk of colorectal cancer. *European Journal of Cancer*, v. 37, p. 2091-2099, 2001.
- LEVRAT, M. A.; FAVIER, M. L.; MOUNDRAS, C.; RÉMÉSY, C.; DEMIGNÉ, C.; MORAND, C. Role of dietary propionic acid and bile acid excretion in the hypocholesterolemic effects of oligosaccharides in rats. *Journal of Nutrition*, v. 124, p. 531-538, 1994.
- LIMA NETO, S.A.; PETROVICK, P.R. A celulose na farmácia. *Caderno de Farmácia*, v. 13, n. 1, p. 19-23, 1997.
- LOPES, L.; ANDRADE, C. T.; MANO, E. B. O Valor das gomas para a indústria. *Ciência Hoje*, v. 12, n. 71, p. 65-67, 1991.
- LUTZ, M.; ESPINOZA, J.; ARANCIBIA, A.; ARAYA, M.; BRUNSER, O. Effect of structured dietary fiber on bioavailability of amoxicillin. *Clinical and Pharmacological Therapy*, v. 42, n. 8, p. 220-224, 1987.
- MARCHETTI, M.; PISANI, S.; PIETROPAOLO, V.; SEGANTI, L.; NICOLETTI, R.; DEGENER, A.; ORSI, N. Antiviral effect of a polysaccharide from *Sclerotium glaucum* towards herpes simplex virus type 1 infection. *Planta Medica*, v. 64, n. 4, p. 303-307, 1996.
- MOUSTAFA, A. M.; AL-SHORA, H. I.; GABER, M.; GOUDA, M. W. Decreased bioavailability of quinidine sulphate due to interactions with adsorbent antacids and antidiarrhoeal mixtures. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 34, n. 3, p. 207-211, 1987.
- NEUBERT, R.; FRITSCH, B.; DÖNGOWSKI, G. Interactions between food components and drugs, part 3: interactions between pectin and propranolol. *Pharmazie*, v. 50, p. 414-416, 1995.

- PASTORS, J. G.; BLAISDELL, P. W.; BALM, T. K.; ASPLIN, C. M.; POHL, S. L. *Psyllium* fiber reduces rise in postprandial glucose and insulin concentrations in patients with non-insulin-dependent diabetes. *American Journal of Clinical Nutrition*, v. 53, p. 1431-1435, 1991.
- PELUCCHI, C.; LA VECCHIA, C.; CHATENOUA, L.; NEGRIA, E.; CONTIC, E.; MONTELLAD, M.; CALZAB, S.; DAL MASOE, L.; FRANCESCHIF, S. Dietary fibres and ovarian cancer risk. *European Journal of Cancer*, v. 37, n.17, p. 2235-2239, 2001.
- REDDY, B. S. Prevention of colon carcinogenesis by components of dietary fiber. *Anticancer Research*, v. 19, n. 5A, p. 3681-3683, 1999.
- REISER, S. Metabolic effects of dietary pectins related to human health. *Food Technology*, Feb., p. 91-99, 1987.
- RÉMÉSY, C.; DEMIGNÉ, C. Specific effects of fermentable carbohydrates on blood urea flux and ammonia absorption in the rat cecum. *Journal of Nutrition*, v. 119, n. 4, p. 560-565, 1989.
- RIVELLESE, A. A.; MAFFETTONE, A. Dietary fibre in the treatment of metabolic diseases. *European Journal of Clinical Nutrition*, v. 49, n. 3, p. 110-112, 1995.
- ROBBERS, J. E.; SPEEDIE, M. K.; TYLER, V. E. *Pharmacognosy and Pharmacobiotechnology*. Baltimore: Williams e Wilkins, 1996.
- ROMBI, M. *100 Plantes medicinales*. Paris: Romart, 1991.
- SALYERS, A. A.; KURITZA, A. P.; MCCARTHY, R. E. Influence of dietary fiber on the intestinal environment. *Proceedings of the Society of Experimental and Biological Medicine*, v. 180, p. 415-421, 1985.
- SCHNEEMAN, B. O. Dietary fiber: physical and chemical properties, methods of analysis, and physiological effects. *Food Technology*, Feb., p. 104-110, 1986.
- SILVERMAN, H. M. (Part II) Metabolic effects of fiber supplementation. *Pharmaceutical Times*, v. 55, n. 7, p. 158-167, 1989.
- SPILLER, R. C. Pharmacology of dietary fiber. *Pharmacology and Therapy*, v. 62, p. 407- 427, 1994.
- SPILLER, R. C. Cholesterol, fibre and bile acids. *Lancet*, v. 347, p. 415-416, 1996.
- SRIVASTAVA, R.; KULSHRESHTHA, D.K. Bioactive polysaccharides from plants. *Phytochemistry*, v. 28, p. 2877-2883, 1989.
- SUNVOLD, D. G.; TITGEMEYER, E. C.; BOURQUIN, L. D.; FAHEY JR., G. C.; GARLEB, K. A. Alteration of the fiber and lipid components of a defined-formula diet: effects on stool characteristics, nutrient digestibility, mineral balance, and energy metabolism in humans. *American Journal of Clinical Nutrition*, v. 62, p. 1252-1260, 1995.
- TODD, P. A.; BENFIELD, P.; GOA, K. L. Guar gum: a review of its pharmacological properties, and use as a dietary adjunct in hypercholesterolemia. *Drugs*, v. 39, n. 6, p. 917-928, 1990.
- TOMLIN, J.; READ, N. W. The effect of resistant starch on colon function in humans. *British Journal of Nutrition*, v. 64, p. 589-595, 1990.
- TOPPING, D. L. Soluble fiber polysaccharides: effects on plasma cholesterol and colonic fermentation. *Nutrition Review*, v. 49, n. 7, p.195-203, 1991.
- TRUSWELL, A. S. Dietary fibre and plasma lipids. *European Journal of Clinical Nutrition*, v. 49, suppl. 3, p. S105-S109, 1995.
- TULUNG, B.; RÉMÉSY, C.; DEMIGNÉ, C. Specific effects of guar gum or gum arabic on adaptation of cecal digestion to high fiber diets in rat. *Journal of Nutrition*, v. 117, p. 1556-1561, 1987.

- WAITZBERG, D. L. *Nutrição enteral e parenteral na prática clínica*. 2. ed. Rio de Janeiro: Atheneu, 1995.
- WAITZBERG, D. L.; COPPINI, L. Z.; HABR-GAMA, A. Fibras. In: WAITZBERG, D. L. (Ed.). *Nutrição enteral e parenteral na prática clínica*. Rio de Janeiro: Atheneu, 1990. p. 75-80.
- WORLD Health Organization. *WHO monographs on selected medicinal plants*. Geneva: WHO, 1999. vol. 1.
- WRIGHT, R. S.; ANDERSON, J. W.; BRIDGES, S. R. Propionate inhibits hepatocyte lipid synthesis. *Proceedings of the Society of Experimental and Biological Medicine*, v. 195, p. 29, 1990.
- YOUNES, H.; GARLEB, K.; BEHR, S.; RÉMÉSY, C.; DEMIGNÉ, C. Fermentable fibers or oligosaccharides reduce urinary nitrogen excretion by increasing urea disposal in the rat cecum. *Journal of Nutrition*, v. 125, n. 4, p.1010-1016, 1995.

11. SUGESTÕES PARA LEITURA

- BRUNETON, J. *Pharmacognosie, phytochimie, plantes medicinales*. 2^{ème} ed. Paris: Lavoisier, 1993.
- ROBBERS, J. E.; SPEEDIE, M. K.; TYLER, V. E. *Pharmacognosy and Pharmaco-biotechnology*. Baltimore: Williams e Wilkins, 1996.
- SPILLER, R. C. Pharmacology of dietary fiber. *Pharmacology and Therapy*, v. 62, p. 407- 427, 1994.
- SRIVASTAVA, R.; KULSHRESHTHA, D.K. Bioactive polysaccharides from plants. *Phytochemistry*, v. 28, p. 2877-2883, 1989.
- TODD, P. A.; BENFIELD, P.; GOA, K. L.. Guar gum: a review of its pharmacological properties, and use as a dietary adjunct in hypercholesterolemia. *Drugs*, v. 39, n. 6, p. 917-928, 1990.

AGRADECIMENTOS

Ao farmacêutico M. Sc. Rodrigo Dall'Agnol, pelo auxílio na elaboração deste capítulo.

COMPOSTOS FENÓLICOS SIMPLES E HETEROSÍDICOS

AUTORES

José Carlos Tavares Carvalho
Grace Gosmann
Elcio Paulo Schenkel

SUMÁRIO DO CAPÍTULO

1. Introdução
2. Classificação
3. Os ácidos fenólicos
e os derivados do ácido cinâmico
4. Biogênese
5. Distribuição e quimiotaxonomia
6. Propriedades gerais
7. Obtenção, detecção e identificação
8. Propriedades biológicas
9. Emprego farmacêutico
10. Drogas vegetais clássicas
11. Referências bibliográficas
12. Sugestões para leitura

1. INTRODUÇÃO

Compostos fenólicos pertencem a uma classe de compostos que inclui uma grande diversidade de estruturas, simples e complexas, que possuem pelo menos um anel aromático no qual, ao menos, um hidrogênio é substituído por um grupamento hidroxila. Estão amplamente distribuídos no reino vegetal e nos microorganismos, fazendo também parte do metabolismo animal. No entanto, os animais, em princípio, são incapazes de sintetizar o anel aromático, e os compostos fenólicos produzidos em pequena quantidade pelos mesmos, utilizam o anel benzênico de substâncias presentes na dieta alimentar. Por outro lado, os vegetais e a maioria dos microorganismos têm a capacidade de sintetizar o anel benzênico, e, a partir dele, principalmente, compostos fenólicos. Dentre os compostos fenólicos pertencentes ao metabolismo secundário dos vegetais são encontradas estruturas tão variadas quanto a dos ácidos fenólicos, dos derivados da cumarina, dos pigmentos hidrossolúveis das flores, dos frutos e das folhas. Além disso, essa classe de compostos abrange as ligninas e os taninos, polímeros com importantes funções nos vegetais. Ainda, estruturas fenólicas são encontradas fazendo parte de proteínas, alcalóides e terpenóides.

2. CLASSIFICAÇÃO

Os compostos fenólicos podem ser classificados segundo o tipo do esqueleto principal, conforme represen-

tado na tabela 1, onde C6 corresponde ao anel benzênico e CX à cadeia substituinte com X átomos de carbono.

TABELA 1
Classificação dos compostos fenólicos de acordo com o esqueleto básico

Esqueleto básico	Classe de compostos fenólicos
C6	fenóis simples, benzoquinonas
C6-C1	ácidos fenólicos
C6-C2	acetofenonas e ácidos fenilacéticos
C6-C3	fenilpropanóides: ácidos cinâmicos e compostos análogos, fenilpropenos, cumarinas, isocumarinas e cromonas
C6-C4	naftoquinonas
C6-C1-C6	xantonas
C6-C2-C6	estilbenos, antraquinonas
C6-C3-C6	flavonóides e isoflavonóides
(C6-C3) ₂	lignananas
(C6-C3-C6) ₂	diflavonóides
(C6) _n	melaninas vegetais
(C6-C3) _n	ligninas
(C6-C1) _n	taninos hidrolisáveis
(C6-C3-C6) _n	taninos condensados

Outro tipo de classificação está relacionada com a ocorrência desses compostos no reino vegetal. Assim, podem ser divididos em:

a) *compostos fenólicos amplamente distribuídos*, como os derivados de ácidos benzoicos e de ácidos cinâmicos, cumarinas, flavonóides, e derivados de polimerização (taninos e ligninas).

b) *compostos fenólicos de distribuição restrita*, abrangendo as classes de substâncias não citadas no item anterior.

Cada classe de compostos apresenta ampla variação estrutural, principalmente pela presença de diferentes substituintes (hidroxilas ou metoxilas) em um esqueleto aromático comum.

3. OS ÁCIDOS FENÓLICOS E OS DERIVADOS DO ÁCIDO CINÂMICO

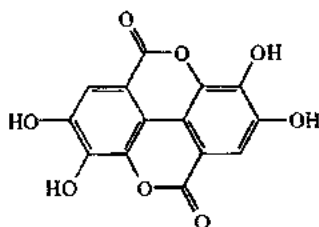
Neste capítulo serão abordados os fenóis simples e ácidos fenolcarboxílicos, especificamente aqueles derivados formalmente do ácido benzoico (C6-C1) e do ácido cinâmico (C6-C3), considerando suas propriedades químicas, aspectos analíticos e interesse farmacológico (ver tabela 2). Esses compostos citados serão apresentados em conjunto por possuírem propriedades químicas e analíticas semelhantes, assim como algumas ações biológicas em comum.

Os outros grupos fenólicos de interesse são abordados nos capítulos seguintes.

3.1. Derivados do ácido benzóico (C6-C1)

As estruturas do ácido *p*-hidróxi-benzóico **1**, ácido salicílico **2**, ácido protocatéquico **3**, ácido vanílico **4**, ácido gentísico **5**, ácido gálico **6** e ácido siríngico **7** são apresentados na tabela 2.

Os ácidos *p*-hidróxi-benzóico, vanílico e siríngico são obtidos após hidrólise ácida de folhas de gimnospermas e angiospermas, possuindo estreita relação com a composição da lignina. O ácido protocatéquico apresenta ampla distribuição e o ácido gálico é encontrado mais frequentemente na natureza na forma de seu dímero de condensação - o ácido elágico **8**. Os ácidos gálico e elágico são constituintes dos taninos hidrolisáveis, do qual são liberados por hidrólise ácida. O ácido elágico é encontrado em diversas ordens das dicotiledôneas, estando ausente nas monocotiledôneas, gimnospermas e pteridófitas (ver capítulo “Taninos”).



8
ácido elágico

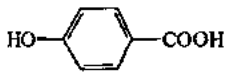
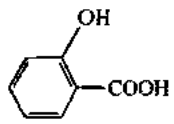
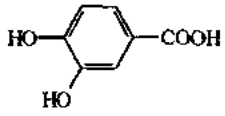
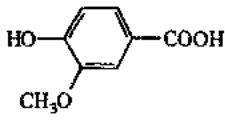
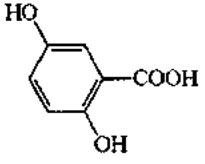
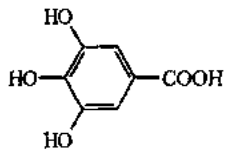
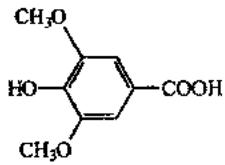
Existem outros ácidos com estrutura semelhante, mas de distribuição restrita. Podem ser citados os ácidos metoxilados: ácido *p*-metóxi-benzóico (ácido anísico), ácido 3,4-dimetóxi-benzóico (ácido verátrico) e ácido 3,4,5-trimetóxi-benzóico.

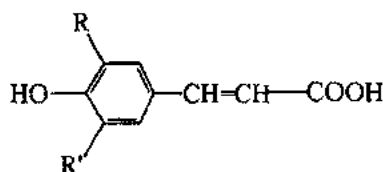
O aldeído *p*-hidróxi-benzóico e aqueles derivados do ácido vanílico e siríngico são encontrados em coníferas e estão muito relacionados com a lignina, da qual são obtidos após hidrólise alcalina. Os álcoois salicílico e gentísico possuem distribuição restrita.

3.2 Derivados do ácido cinâmico (C6-C3)

Quatro derivados do ácido cinâmico são amplamente distribuídos no reino vegetal: ácido *p*-cumárico **9**, ácido caféico **10**, ácido ferúlico **11** e ácido sinápico **12**. Praticamente todos os tecidos vegetais possuem ao menos um dentre esses ácidos (tabela 2).

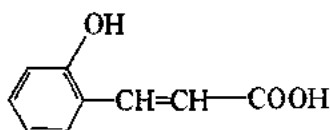
TABELA 2
Ácidos fenólicos derivados do ácido benzóico e do ácido cinâmico

Mono-hidroxilados	Di-hidroxilados	Tri-hidroxilados
Derivados C6-C1 ou derivados do ácido benzóico		
 ácido <i>p</i>-hidróxi-benzóico 1  ácido <i>o</i>-hidróxi-benzóico (ácido salicílico) 2	 ácido protocatéquico 3  ácido vanílico 4  ácido gentísico 5	 ácido gálico 6  ácido siringico 7
Derivados C6-C3 ou derivados do ácido cinâmico		



R=R'= H ácido <i>p</i> -cumárico 9	R= OH R'= H ácido caféico 10	R=R'= OCH ₃ ácido sináptico 12
	R= OCH ₃ R'= H ácido ferúlico 11	

O ácido *o*-cumárico **13** tem distribuição restrita, mas é importante por originar facilmente, através de ciclização, a cumarina, que é um constituinte frequentemente responsável pelo odor nos vegetais.

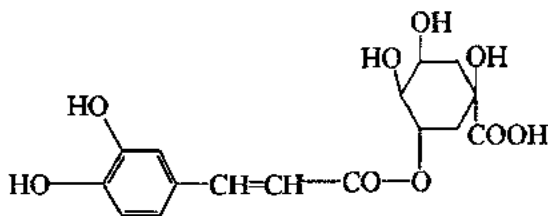


13
ácido *o*-cumárico

Esses ácidos, que têm uma ligação dupla, podem existir sob duas formas isoméricas, por exemplo, ácido *cis*-cinâmico (isômero *Z*) e ácido *trans*-cinâmico (isômero *E*). Os derivados do ácido cinâmico mais encontrados na natureza possuem conformação *trans* e são os mais estáveis. No entanto, esses dois isômeros se transformam um no outro pela influência da luz em meio aquoso. Esses isômeros podem ser separados através de CCD usando como eluente ácidos orgânicos diluídos, como ácido acético.

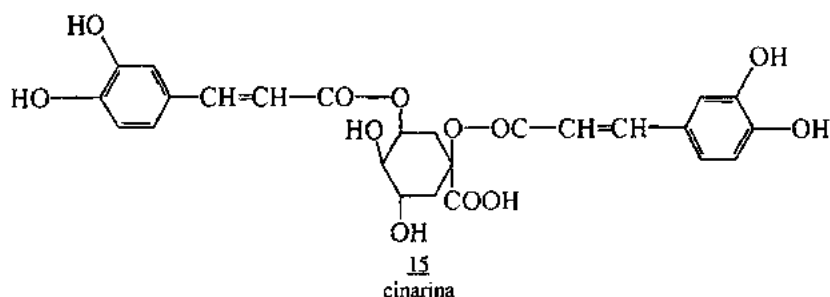
3.3. Ésteres e heterosídeos de ácidos fenólicos e do ácido cinâmico

Esse grupo de substâncias, também referido como derivados do ácido fenilacrilico, apresenta ampla distribuição no reino vegetal, sendo encontrado na forma de ésteres, glicosídeos e amidas. Nesse grupo destacam-se os derivados do ácido caféico. O primeiro composto conhecido dessa série foi o ácido clorogênico **14**, obtido de grãos de café por Payen em 1846. Posteriormente, essa substância foi identificada como o ácido 3-*O*-cafeoilquínico, éster do ácido 3,4-di-hidróxi-cinâmico, denominado ácido caféico, e ácido quínico, através da esterificação da hidroxila em C-3 desse último. Mais tarde, foram descritos os isômeros provenientes da esterificação em outras posições do ácido quínico: o ácido criptoclorogênico (ou ácido 4-*O*-cafeoilquínico), e o ácido neoclorogênico (ou ácido 5-*O*-cafeoilquínico); o ácido isoclorogênico é, de fato, uma mistura de derivados 3,4-, 3,5- e 4,5-*O*-dicafeoilquínicos. O ácido 1,3-*O*-dicafeoilquínico **15**, frequentemente en-

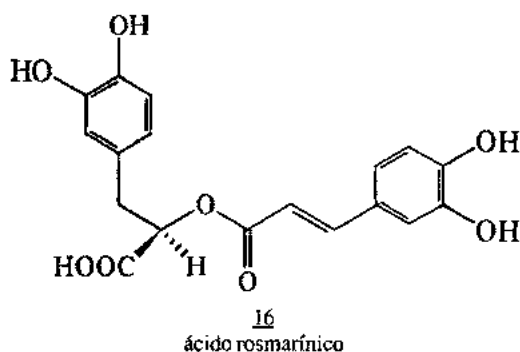


14
ácido clorogênico

contrado em Asteraceae, é conhecido como cinarina, a qual possui interesse farmacêutico, sendo componente da alcachofra (ver item 10).



Os outros tipos de ésteres também são de ampla distribuição em plantas, destacando-se os derivados do ácido tartárico, como o ácido 2,3-O-dicafeoiltartárico (também conhecido como ácido chicórico) e do ácido láctico, o ácido 2-O-cafeoil-3-(3,4-di-hidróxi-fenil)-D-láctico, denominado ácido rosmarínico **16**, de ampla ocorrência na sub-família Nepetoideae (Lamiaceae), por exemplo no alecrim, sálvia, melissa e orégano (Teuscher, 1990). Da mesma forma, são conhecidos ésteres derivados do ácido *p*-cumárico e do ácido ferúlico com o ácido quínico.



Ainda de ampla distribuição são os derivados fenilacrílicos, encontrados na forma de glicosídeos, como 1-cafeoilglicose, o melilotosídeo (heterosídeo do ácido *o*-cumárico e glicose) e 3-cafeoilglicose, esse último encontrado, entre muitos outros, na batata-inglesa (Ribéreau-Gayon, 1968; Dewick, 1998).

Ao contrário dos ésteres e heterosídeos do ácido cinâmico, muito pouco se sabe daqueles derivados do ácido benzóico. Além do ácido gálico, o qual é constituinte básico dos taninos hidrolisáveis, há relatos da ocorrência de cer-

tos ácidos na forma heterosfídica, como os ácidos *p*-hidróxi-benzóico, protocatéquico e vanílico.

A participação desses compostos na constituição de ligninas é importante (ver capítulo: “Lignanas, neolignanas e análogos”). Existe uma estreita relação entre a presença de ligninas em plantas lenhosas e a ocorrência de ácidos fenólicos em suas folhas. Assim, pteridófitas (por exemplo, samambaias) contêm lignina e ácidos *p*-hidróxi-benzóico e vanílico. Por outro lado, todas as bactérias, fungos e algas e a maioria das briófitas (musgos, por exemplo) não possuem tecidos lignificados e, portanto, não possuem ácidos fenólicos.

4. BIOGÊNESE

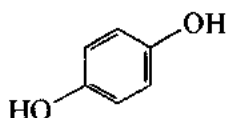
Os compostos fenólicos podem ser formados através de duas rotas biogênicas: pela via do ácido chiquímico a partir de carboidratos, ou pela via do acetato-polimalato que inicia com acetil-coenzima A e malonil-coenzima A. A origem biogênica determina o padrão de substituição do composto fenólico resultante. Dessa maneira, pela via do ácido chiquímico obtém-se compostos com grupos hidroxilas em posição *orto*, que se formam a partir do ácido cinâmico. Por outro lado, a via do acetato-polimalato origina compostos com grupos hidroxilas dispostos em *meta* (Geissman e Crout, 1969) (ver capítulo: “Flavonóides”).

É importante ressaltar que uma característica da biogênese de derivados fenólicos é a capacidade que os vegetais têm de produzir um mesmo composto (como o ácido clorogênico) a partir de diferentes intermediários, isto é, os vegetais apresentam rotas biogênicas alternativas.

Outra característica importante é a possibilidade de ocorrerem acoplamentos oxidativos que originam ligações C-C ou C-O intramoleculares com formação de anéis, e intermoleculares com formação de polímeros (ver capítulo: “Lignanas, neo-lignanas e análogos”) (Dewick, 1998).

5. DISTRIBUIÇÃO E QUIMIOTAXONOMIA

A maioria dos fenóis simples são de distribuição restrita (fenol, pirocatecol, resorcinol e floroglucinol), sendo uma das exceções a hidroquinona 17, que é encontrada em representantes de diversas famílias.



17
hidroquinona

Os derivados do ácido benzóico são amplamente encontrados tanto nas angiospermas como nas gimnospermas. O ácido gálico ocorre, preferencialmente, em plantas lignificadas, na forma solúvel (éster de ácido quínico) ou como tanino hidrolisável. Seu produto de dimerização (ácido hexa-hidróxi-difênico) e derivados, como o ácido elágico, são amplamente distribuídos. Diferentes aldeídos aromáticos são comuns nos óleos voláteis, como o anisaldeído (constituente do óleo de amêndoas-amargas - *Prunus amygdalus* Stokes var. *amara* DC.) e a vanilina (*Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews), este último com ampla distribuição. Esses compostos são encontrados nos vegetais tanto na forma livre, como combinados na forma de ésteres ou heterosídeos.

Compostos de esqueleto C6-C2, como cetonas fenólicas, têm sido raramente identificados. Por outro lado, os derivados do ácido cinâmico possuem ampla distribuição, com exceção dos ácidos *o*-cumárico e ferúlico. São compostos encontrados raramente na forma livre nos vegetais, mas combinados na forma de ésteres ou heterosídeos.

Os compostos fenólicos são raramente encontrados em bactérias, algas e fungos, no entanto, é importante mencionar que os líquens - a forma associativa entre algas e fungos - produzem compostos fenólicos e seus depsídeos que são característicos de seu metabolismo e possuem interessantes propriedades farmacológicas.

Dentre os compostos mencionados, os ésteres do ácido caféico parecem ter importância taxonômica na família Lamiaceae. Ainda que o ácido caféico e outros derivados do ácido cinâmico apresentem ampla distribuição nos vegetais, alguns desses ésteres têm ocorrência restrita em alguns gêneros. Assim, o ácido clorogênico e o ácido rosmarínico, juntamente com outros derivados do ácido caféico, têm sido estudados como possíveis marcadores taxonômicos nessa família. Outros trabalhos indicam uma forte correlação taxonômica entre derivados do ácido caféico e algumas famílias e ordens (Molgaard e Ravn, 1988; Brown e Banthorpe, 1992).

6. PROPRIEDADES GERAIS

A maior parte dos compostos fenólicos não é encontrada no estado livre na natureza, mas sob a forma de ésteres ou de heterosídeos sendo, portanto, solúveis em água e em solventes orgânicos polares. Por serem fenólicos, esses compostos são muito reativos quimicamente e isso não deve ser esquecido quando do seu isolamento dos vegetais. Assim, possuem, em geral, características ácidas, e podem ser isolados através da sua solubilidade em soluções fracamente básicas (por exemplo, solução de carbonato de sódio). Sendo compostos fenólicos podem formar pontes de hidrogênio, e essas podem ser tanto intramoleculares como intermoleculares. Essa última é importante na ligação com proteínas, característica utilizada no teste de identificação de

taninos através da precipitação da gelatina, por exemplo. Outra característica importante é a propriedade de complexação dos fenóis com metais, sendo que muitos desses quelatos metálicos são importantes em diversos sistemas biológicos. Por serem compostos aromáticos, apresentam intensa absorção na região do UV. Os compostos fenólicos são facilmente oxidáveis, tanto através de enzimas vegetais específicas quanto por influência de metais (como ferro e manganês), da luz e do calor, ou em meio alcalino, ocasionando o escurecimento de suas soluções ou dos compostos isolados. Ainda, aldeídos aromáticos são passíveis de formarem produtos de condensação.

7. OBTENÇÃO, DETECÇÃO E IDENTIFICAÇÃO

Esses compostos podem ser obtidos a partir de um extrato etanólico do material fresco ou seco, sendo visualizados em CCD diretamente, através de luz UV e exposição aos vapores de amônia, ou através de reagentes cromogênicos. Assim, são utilizados os reativos gerais para fenóis, como cloreto férrico, sais do ácido fosfomolibdico, vanilina e outros aldeídos aromáticos em meio ácido clorídrico.

Esses compostos são instáveis: todos os fenóis são facilmente oxidáveis, principalmente em meio básico; os derivados do ácido cinâmico podem se isomerizar (*E/Z*) em solução aquosa sob a influência de luz UV, além disso, os ésteres cinâmicos, em meio ácido ou alcalino, originam misturas de seus isômeros de posição (ácidos cafeoilquínicos). Devido a esta fragilidade, é recomendado durante a extração evitar valores de pH extremos e concentrar as soluções extrativas a baixa temperatura.

A solução aquosa resultante do extrato alcoólico inicial pode ser fracionada utilizando-se solventes de polaridade crescente e, desse modo, obter separadamente os compostos na forma livre, na forma de ésteres, e os heterosídeos.

A análise desses compostos é realizada, classicamente, através de CCD em celulose, gel de sílica, ou poliamida. A cromatografia bidimensional em papel/celulose ou gel de sílica é bastante útil na separação e identificação de diversos fenóis, ácidos fenólicos e derivados do ácido cinâmico, principalmente quando associada a outras informações, como coloração da fluorescência sob luz UV, coloração com reagentes químicos e valor de *R_f*. A identificação desses compostos pode ser realizada através da comparação dessas características com amostras autênticas. Também podem ser utilizadas a CG, após derivatização dos mesmos, e CLAE em fase reversa, cujos eluentes são, em geral, misturas de água, acetonitrila ou álcoois, e pequenas quantidades de soluções ácidas, para evitar a ionização.

A identificação dos compostos fenólicos pode ser confirmada por métodos espectroscópicos, como os espectros no ultravioleta de suas soluções

etanólicas antes e após alcalinização, observando os deslocamentos característicos.

Tanto os derivados do ácido benzóico quanto os do ácido cinâmico podem ser separados e identificados simultaneamente através de CCD, após hidrólise ácida ou alcalina dos extratos vegetais (Egger, 1969; Harborne, 1989).

8. PROPRIEDADES BIOLÓGICAS

Os compostos fenólicos contribuem para o sabor, odor e coloração de diversos vegetais, sendo muitos desses economicamente importantes pela utilização como flavorizantes e corantes de alimentos e bebidas.

Muitos dos compostos fenólicos são constituintes de óleos voláteis e alguns são aromatizantes tradicionais como o aldeído cinâmico (na canela, *Cinnamomum verum* J. S. Presl. = *Cinnamomum zeylanicum* Bryn) e a vanilina (em *Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews), de amplo emprego na indústria de alimentos. Em ecologia química, é ressaltada a participação de fenóis como a hidroquinona, o ácido elágico e ésteres do ácido gálico na defesa das plantas, além de participarem na inter-relação entre animais e vegetais, com atividades como a inibição da germinação de sementes, do crescimento de fungos e de plantas em geral. Alguns fenilpropanóides têm sido relatados como marcantes supressores do apetite de insetos (Harborne, 1985, 1997; Leitão et al., 1997).

Para alguns derivados de ácidos fenólicos tem sido relatada atividade antioxidante, como para o ácido clorogênico, para o ácido caféico e seus ésteres com esteróis e triterpenos, bem como para o ácido ferúlico e seus ésteres com esteróis e triterpenos. Essas evidências têm sugerido que doenças causadas pelas reações oxidativas em sistemas biológicos podem ser retardadas pela ingestão de antioxidantes naturais encontrados na dieta, principalmente de compostos fenólicos. Nesse sentido, há relatos de efeito antioxidante do extrato de *Ilex paraguariensis* A. St.-Hil. (erva-mate) sobre a oxidação de LDL (lipoproteínas de baixa densidade) *in vitro* e *in vivo*, assim como da ação antioxidante e pró-oxidante de *Camellia sinensis* (L.) Kuntze (= *Thea sinensis* L.) (chá-da-índia). Efeitos sinérgicos também foram relatados para a atividade antioxidante entre uma mistura de compostos fenólicos obtidos da batata-doce e uma mistura de aminoácidos, considerando que essa proteção é maior para essas duas misturas quando testadas em associação do que quando empregadas separadamente (Larson, 1988; Gugliucci, 1996; Yen et al., 1997).

De interesse farmacológico, tem sido apontada a atividade antibacteriana e antiviral de ésteres do ácido caféico, destacando-se o equinocósideo, de ocorrência descrita em diversas espécies de *Echinacea*, e o plantamajosídeo de *Plantago major* L. Alguns glicosídeos do ácido caféico apresentaram seletiva inibição da 5-lipoxigenase, que está relacionada com a biogênese dos leu-

cotrienos e estes, por sua vez, estão envolvidos na imuno-regulação (Kimura et al., 1987; Ravn e Brimer, 1988; Bauer e Wagner, 1990). Ésteres do ácido caféico são considerados as substâncias ativas na alcachofra (ver item 10).

9. EMPREGO FARMACÊUTICO

O guaiacol, inicialmente utilizado como expectorante, originou a guai-fenesina, o seu éter glicerínico, um dos fármacos de maior utilização como expectorante atualmente. A hidroquinona é utilizada em preparações dermatológicas pela sua atividade inibidora da síntese da melanina. Por isso, é preconizada no tratamento local de hiperpigmentação. No entanto, devido a essa atividade ser irregular, recomenda-se o tratamento de pequenas áreas, evitando tratamentos prolongados e a exposição solar.

As folhas de alcachofra (*Cynara scolymus* L.) caracterizam-se pela sua composição em ácidos fenólicos, aos quais são atribuídas ações cole-rética e hipocolesterolêmica. Apesar de vários estudos terem sido realizados, os resultados são controversos, sendo necessários estudos adicionais para estabelecer o benefício da alcachofra como um redutor de lipídeos e colesterol e como hepatostimulante e hepatoprotetor (ver item 10).

A capsaicina é obtida das sementes de algumas espécies de *Capsicum* da família Solanaceae, utilizada como analgésico tópico. A aplicação tópica de creme com capsaicina tem sido utilizada no tratamento de neuralgia pós-herpética, sendo considerado, nesse caso, como um tratamento alternativo seguro. É indicada para o alívio temporário de neuralgias periféricas, bem como para o alívio de dores associadas com artrite reumatóide e osteoartrite (ver item 10).

Alguns compostos fenólicos são, ainda, amplamente utilizados industrialmente na fabricação de resinas, corantes e explosivos (fenol, *p*-cresol, resorcinol), como matéria-prima (substância ativa ou adjuvante) na indústria farmacêutica (guaiacol, ácido salicílico, *p*-anisaldeído, vanilina), como reveladores fotográficos (hidroquinona, catecol e pirogallol), na indústria de tintas e corantes (ácido gálico), e na indústria de alimentos como antioxidantes.

10. DROGAS VEGETAIS CLÁSSICAS

ALCACHOFRA

Nome científico: *Cynara scolymus* L.

Família botânica: Asteraceae

Parte utilizada: folhas

Monografias farmacopéicas: F. Bras. III e Ph. Franç. X

A alcachofra é originária da região mediterrânea, onde é também cultivada. Hoje, é difundida mundialmente, principalmente com finalidades alimentícias, sendo utilizadas as brácteas frescas. As folhas são amplamente utiliza-

das em preparações fitoterápicas, com indicação principal para problemas hepáticos. Na França, a legislação sobre medicamentos à base de plantas permite a utilização de folhas para chá, droga moída ou extratos hidroalcoólicos com as indicações *tradicionalmente usada como colerético e colagogo* e *tradicionalmente usada para promover a eliminação renal de água* (France, 1990). Também na Alemanha, há comercialização da droga moída, suco fresco da planta e outras preparações com a indicação de colerético. Como contra-indicações, são apontadas alergia à alcachofra e a outras plantas da família Asteraceae e bloqueio dos canais biliares (Deutschland, 1990). No Brasil, a alcachofra constitui uma das plantas com maior número de produtos farmacêuticos no mercado, indicado principalmente como coleréticos e colagogos (Ortega et al., 1989; DEF 97/98).

Dados químicos:

Os componentes químicos principais são: ácidos fenólicos (até 2%), como ácido caféico, ácido clorogênico e cinarina; flavonóides (0,1 a 1%), e óleos voláteis.

A composição do extrato vegetal em ácidos fenólicos depende da forma de secagem das folhas e do seu processo extrativo, devido à possibilidade de hidrólise e transesterificações que podem ocorrer em meio aquoso. Assim, a cinarina, citada usualmente como o componente principal, pode não ser detectada.

Métodos analíticos têm sido descritos para a padronização dos extratos para o teor de derivados cafeoilquínicos e para a cinarina através de CLAE (Bettero, 1981) e para as lactonas sesquiterpênicas através de cromatografia gasosa.

Dados farmacológicos:

A atividade colerética tem sido atribuída principalmente aos derivados cafeoilquínicos. Estudos em animais indicaram atividade hipocolesterolêmica dos extratos purificado e bruto de alcachofra em ratos (Lietti, 1977). No entanto, ensaio clínico em pacientes com hiperlipoproteinemia em que a cinarina foi administrada 15 minutos antes das refeições na dose de 250 mg a 750 mg (dose diária), não mostrou efetividade após um período de 3 meses de tratamento (Heckers et al., 1977). Adicionalmente, tem sido apontado, através de ensaios *in vitro*, um efeito protetor da necrose celular em culturas de hepatócitos tratadas com tetracloreto de carbono ou clorofórmio, atividade essa atribuída à presença de substâncias antioxidantes nas folhas de alcachofra (Adzet et al., 1987; Gebhardt, 1997).

A ocorrência de dermatite de contato alérgica foi relatada para alcachofra. Essa ação é atribuída à presença de lactonas sesquiterpênicas como a cinaropierina. Por essa razão, adverte-se que indivíduos com história de sensibilidade a outras plantas da família Asteraceae podem desenvolver reação alérgica a alcachofra (Meding, 1983; Quirce et al., 1996).

CÁPSICO

Nome científico: *Capsicum* spp.

Família botânica: Solanaceae

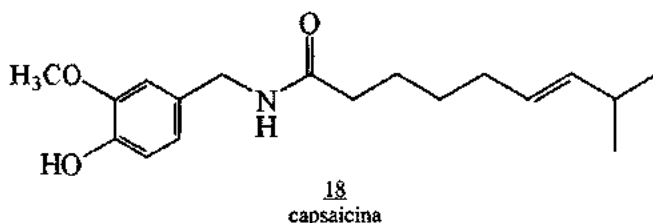
Parte utilizada: fruto

Monografias farmacopéicas: DAB 10, ÖAB 1990. JP 1991 e Farmacopéia da Hungria 1986.

Espécies de *Capsicum* são conhecidas popularmente como: tili, pimenta-quente, páprica e pimenta-vermelha. Essas espécies são bastante utilizadas na alimentação como temperos e como corantes e aromatizantes na indústria. A droga inscrita na Farmacopéia Alemã corresponde aos frutos secos de *Capsicum annum* L. var. *longum* (DC.) Sendtner.

Dados químicos

Os componentes principais, responsáveis pelo sabor picante e também pelas principais atividades biológicas atribuídas à droga, são os capsaicinóides (até 1%), destacando-se ainda o teor em carotenóides, responsáveis pela sua coloração vermelha, e presença de ácido ascórbico. Os capsaicinóides são amidas da vanilamina (4-hidróxi-3-metóxi-benzilamina) e ácidos graxos saturados ou insaturados. Mais de uma dezena desses compostos são conhecidos, sendo a capsaicina 18 o mais importante (Teuscher, 1990).



Dados farmacológicos

A droga é caracterizada pelo sabor picante, perceptível em diluições extremas. No trato gastrointestinal estimula a secreção gástrica e o peristaltismo; em aplicações tópicas provoca hiperemia através da estimulação de receptores térmicos.

A aplicação tópica de creme com capsaicina na concentração de 0,025% ou 0,075%, 3 a 5 vezes ao dia no período mínimo de 4 semanas, é considerada efetiva no tratamento de neuralgia pós-herpética. Aplicações de 3 a 4 vezes ao dia têm sido utilizadas na neuropatia diabética, nas dores originárias de mastectomia e na psoríase, sendo que nesses casos, mais estudos são necessários para a indicação ser considerada como uma terapia segura. É indicada topicamente para o alívio temporário de neuralgias periféricas, tais como *Herpes zoster*, bem como no alívio de dores associadas com artrite reumatói-

de e osteoartrite (Bernstein et al., 1989; Low et al., 1995; Ellison et al., 1997; Fusco e Giacobazzo, 1997).

O mecanismo de ação está relacionado com seu efeito sobre a substância P, um undecapeptídeo endógeno que ocorre nas fibras sensoriais aferentes. Esse peptídeo é um neurotransmissor da dor e demonstrou-se que a aplicação local de capsaicina diminui/inibe a acumulação dessa substância dentro do neurônio (Buck e Burks, 1986).

UVA-URSINA

Nome científico: *Arctostaphylos uva-ursi* (L.) Spreng.

Família botânica: Ericaceae

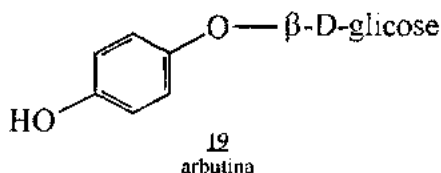
Parte utilizada: folhas

Monografias farmacopéicas: Ph. Bras. I, Ph. Eur. III

A droga é constituída pelas folhas que, após a colheita, devem ser secadas imediatamente para evitar a redução do teor em componentes fenólicos. É utilizada na medicina tradicional desde a Idade Média. Tem sido empregada tradicionalmente para o tratamento de infecções das vias urinárias. A atividade antibacteriana é atribuída aos derivados da hidroquinona, eliminados por via renal, que liberam na urina alcalina a hidroquinona (Frohne, 1970; Jahodar et al., 1985).

Dados químicos:

Compostos fenólicos livres são encontrados raramente na natureza, enquanto que seus derivados O-alkilados são freqüentemente encontrados em óleos voláteis e alguns glicosídeos são de ocorrência freqüente em plantas da família Ericaceae. A droga vegetal uva-ursina destaca-se pelo teor elevado em glicosídeos de fenóis simples. O principal componente é a arbutina **19**, que é um β -O-glicopiranosídeo da hidroquinona, cujo teor varia de 6 a 10%. A metilarbutina, dependendo da origem, alcança teor significativo de até 2,5% (Nahrstedt, 1984; Teuscher, 1990). A droga está inscrita em diversas Farmacopéias, sendo estipulado um teor mínimo de derivados da hidroquinona, no caso da Farmacopéia Alemã de 6%. A droga é caracterizada, ainda, por um teor elevado de taninos derivados do ácido gálico, acima de 10%.



Dados farmacológicos:

Foi demonstrado que o extrato bruto é mais efetivo como adstringente e antisséptico do que a arbutina isolada. Isso pode estar relacionado aos outros

derivados da hidroquinona além da arbutina. Além disso, foi demonstrado que a presença de ácido gálico no extrato bruto pode prevenir a ação da β -glucosidase sobre a arbutina no trato gastrointestinal, aumentando, dessa forma, a absorção dessa última e, logo, a quantidade de hidroquinona liberada durante a excreção renal.

11. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADZET, T.; CAMARASA, J.; LAGUNA, J.C. Hepatoprotective activity of polyphenolic compounds from *Cynara scolymus* against CCl_4 toxicity in isolated rat hepatocytes. *J. Nat. Prod.*, v. 50, p. 612-17, 1987.
- BAUER, R.; WAGNER, H. *Echinacea- Handbuch für Ärzte, Apotheker und andere Naturwissenschaftler*. Stuttgart: Wissenschaftliche, 1990.
- BERNSTEIN, J.E.; KORMAN, N.J.; BICKERS, D.R. et al. Topical capsaicin treatment of chronic postherpetic neuralgia. *J. Am. Acad. Dermatol.*, v. 21, p. 265-270, 1989.
- BETTERO, A Determination of cynarin in pharmaceutical preparations using HPLC. *Boll. Chim. Farm.*, v. 120, p. 49-54, 1981.
- BROWN, G.D.; BANTHORPE, D.V. Characteristic secondary metabolism in tissue cultures of the Labiatae: two new chemotaxonomic markers. In: HARLEY, R.M.; REYNOLDS, T. (ed.). *Advances in labiatae science*. Kew: Royal Botanic Gardens, 1992. p. 367-373.
- BUCK, S.H.; BURKS, T.F. The neuropharmacology of capsaicin: review of some recent observations. *Pharmacol. Rev.*, v. 38, p. 179-226, 1986.
- DEF 97/98. *Dicionário de especialidades farmacêuticas*. 26.ed. Rio de Janeiro: Publicações Científicas, 1997.
- DEUTSCHLAND, Bundesgesundheitsamt, Kommission E *Bundesanzeiger* n. 122, 6.7.1988 e *Bundesanzeiger* n. 164, 1.9.1990.
- DEWICK, P.M. The biosynthesis of shikimate metabolites. *Nat. Prod. Rep.*, v. 15, p. 17-58, 1998.
- EGGER, K. Plant phenol derivatives. In: STAHL, E. (ed.). *Thin-layer chromatography- a laboratory handbook*. Berlin: Springer, 1969. p. 686.
- ELLISON, N.; LOPRINZI, C.L.; KUGLER, J. et al. Phase III placebo-controlled trial of capsaicin cream in the management of surgical neuropathic pain in cancer patients. *J. Clin. Oncol.*, v. 15, p. 2974-2980, 1997.
- FRANCE, Ministère de la Santé et de l'Action Humanitaire. Direction de la Pharmacie et du Médicament. Herbal Remedies. *Notice to applicants for marketing authorization*. Paris, 1990.
- FROHNE, D. Urinary antiseptic effect of bearberry leaf extracts. *Planta Med.*, v. 18, p. 1-25, 1970.
- FUSCO, B.M.; GIACOVAZZO, M. Peppers and pain: the promise of capsaicin. *Drugs*, v. 53, p. 909-914, 1997.
- GEBHARDT, R. Antioxidative and protective properties of extracts from leaves of the artichoke (*Cynara scolymus* L.) against hydroperoxide-induced oxidative stress in cultured rat hepatocytes. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, v. 144, p. 279-86, 1997.
- GEISSMAN, T.A.; CROUT, D.H.G. *Organic chemistry of secondary plant metabolism*. San Francisco: Freeman, Cooper, 1969. p. 92-181.

- GUGLIUCCI, A. Antioxidant effects of *Ilex paraguariensis*: induction of decreased oxidability of human LDL *in vivo*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, v. 224, p. 338-344, 1996.
- HARBORNE, J.B. *Introducción a la bioquímica ecológica*. Madrid: Alhambra, 1985.
- HARBORNE, J.B. (ed.). Plant phenolics. In: DEY, P.M.; HARBORNE, J.B. (ed.). *Methods in plant biochemistry*. London: Academic, 1989. v.1.
- HARBORNE, J.B. Recent advances in chemical ecology. *Nat. Prod. Rep.*, v. 14, p. 83-98, 1997.
- HECKERS, H. et al. Inefficiency of cynarin as therapeutic regimen in familial type II hyperlipoproteinaemia. *Atherosclerosis*, v. 26, p. 249-53, 1977.
- JAHDAR, L.; JILEK, P.; PATKOVA, M.; DVORAKOVA, V. Antimicrobial action of arbutin and the extract from the leaves of *Arctostaphylos uva-ursi* *in vitro*. *Cesk. Farm.*, v. 34, p. 174-178, 1985.
- KIMURA, Y.; OKUDA, H.; NISHIBE, S.; ARICHI, S. Effects of caffeoylglycosides on arachidonate metabolism in leukocytes. *Planta Med.*, p. 148-153, 1987.
- LARSON, R.A. The antioxidants of higher plants. *Phytochemistry*, v. 27, n. 4, p. 969-978, 1988.
- LEITÃO, S.G.; KAPLAN, M.A.C.; MONACHE, F.D.; NYANDAT, E.; RWEKIKI, E.F. Antifeedant activity of two phenylpropanoid glucosides from *Aegiphila obducta* against *Chilo partellus* larvae. *Insect Sci. Applic.*, v. 16, p. 375-378, 1997.
- LIETTL, A. Choleretic and cholesterol lowering properties of two artichoke extracts. *Fitoterapia*, v. 48, p. 153-8, 1977.
- LOW, P.A.; OPFER-GEHRKING, T.L.; DYCK, P.J. et al. Double-blind, placebo-controlled study of the application of capsaicin cream in chronic distal painful polyneuropathy. *Pain*, v. 62, p. 163-168, 1995.
- MEDING, B. Allergic contact dermatitis from artichoke, *Cynara scolymus*. *Contact Dermatitis*, v. 9, p. 314, 1983.
- MOLGAARD, P. et RAVN, H. Evolutionary aspects of caffeoyl ester distribution in dicotyledons. *Phytochemistry*, v. 27, p. 2411-2421, 1988.
- NAHRSTEDT, A. On the reaction product of the quantitative assay of arbutin in bearberry leaves according to the German Pharmacopeia 8. *Dtsch. Apoth. Ztg.*, v. 124, p. 322-324, 1984.
- ORTEGA, G.G.; SCHENKEL, E.P.; ATHAYDE, M.L.; MENTZ, L. A. Brasilianische Phytotherapeutika- Ihre Rolle im Arzneimittelmarkt. *Dtsch. Apoth. Ztg.*, v. 129, p. 1847-1848, 1989.
- QUIRCE, S.; TABAR, A.I.; OLAGUIBEL, J.M.; CUEVAS, M. Occupational contact urticaria syndrome caused by globe artichoke (*Cynara scolymus*). *J. Allergy Clin. Immunol.*, v. 97, p. 710-1, 1996.
- RAVN, H.; BRIMER, L. Structure and antibacterial activity of plantamajoside, a caffeic acid sugar ester from *Plantago major* subsp. *major*. *Phytochemistry*, v. 27, p. 3433-3437, 1988.
- RIBÉREAU-GAYON, P. *Les composés phénoliques des végétaux*. Paris: Dunod, 1968.
- TEUSCHER, E. *Pharmazeutische biologie*. 4 Aufl., Braunschweig: Friedrich Vieweg, 1990.
- YEN, G.-C.; CHEN, H.-Y.; PENG, H.-H. Antioxidant and pro-oxidant effects of various tea extracts. *J. Agric. Food Chem.*, v. 45, p. 30-34, 1997.

12. SUGESTÕES PARA LEITURA

- HARBORNE, J.B. (ed.). Plant phenolics In: DEY, P.M.; HARBORNE, J.B.(ed.). *Methods in plant biochemistry*. London: Academic, 1989. v.1.
- HARBORNE, J.B. Phenolics. In: MANN, J.; DAVIDSON, R.S.; HOBBS, J.B.; BANTHORPE, D.V.; HARBORNE, J.B. (ed.). *Natural products: their chemistry and biological significance*. Essex: Longman, 1994.
- MOLGAARD, P.; RAVN, H. Evolutionary aspects of caffeoyl ester distribution in dicotyledons. *Phytochemistry*, v. 27, p. 2411-2421, 1988.

CUMARINAS, CROMONAS E XANTONAS

AUTORES

Ricardo Machado Kuster
Leandro Machado Rocha

SUMÁRIO DO CAPÍTULO

1. Introdução
2. Terminologia e classificação
3. Biogênese
4. Ocorrência e distribuição
5. Propriedades, extração e caracterização
6. Usos e propriedades farmacológicas
7. Furanocumarinas e fototoxicidade
8. Drogas vegetais clássicas
9. Referências bibliográficas
10. Sugestões para leitura

1. INTRODUÇÃO

As cumarinas são amplamente distribuídas nos vegetais, mas também podem ser encontradas em fungos e bactérias. Estruturalmente, são lactonas do ácido *o*-hidróxi-cinâmico (2H-1-benzopirano-2-onas) (figura 1), sendo o representante mais simples a cumarina (1,2-benzopirona), palavra originada do caribenho *cumaru*, nome popular de *Dipteryx odorata* (Aubl.) Willd., Fabaceae. O *cumaru*, também conhecido por fava-tonka, é encontrado no norte do Brasil e suas sementes contêm grande quantidade de cumarina (1 a 3%). Cerca de 1.300 cumarinas já foram isoladas de fontes naturais. Suas propriedades farmacológicas, bioquímicas e aplicações terapêuticas dependem de seus padrões de substituição (Evans, 1996).

As cromonas (5H-1-benzopirano-5-onas) (figura 1) representam um pequeno grupo de substâncias naturais, cujas estruturas são isômeros de cumarinas. As furanocromonas dos frutos de *Ammi visnaga* (L.) Lam. (Apiaceae), planta encontrada nos países do Mediterrâneo, são as mais conhecidas do ponto de vista medicinal, sendo a quelina o seu principal representante, pelas suas ações vasodilatadora e broncodilatadora. Esta cromona foi incluída nas farmacopéias da França, Rússia, Alemanha, Egito e Áustria e faz parte da composição de alguns medicamentos, comercializados em países europeus, com indicações em angina pectoris e em asma brônquica (Reynolds, 1993).

As xantonas são metabólitos

secundários derivados da dibenzo- γ -pirona (figura 1). Seu nome é proveniente do grego *xanthos* que significa amarelo, decorrente de sua coloração característica. As xantonas de plantas superiores são formadas pela combinação das vias do chiquimato e do acetato. A numeração de seus carbonos é baseada na sua origem biossintética. Os carbonos assinalados de 1 a 4 são derivados da via metabólica do acetato e formam o anel A. Os carbonos assinalados de 5 a 8 são derivados do chiquimato e formam o anel B (Carpenter et al., 1969).

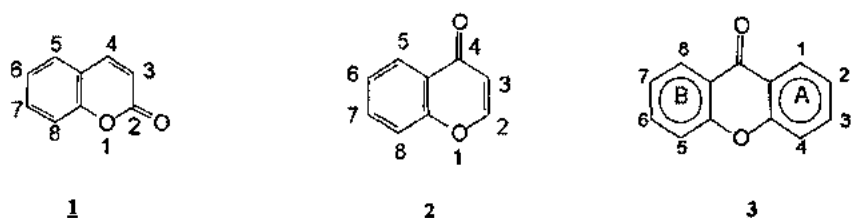


Figura 1. Estruturas básicas das cumarinas 1, cromonas 2 e xantonas 3

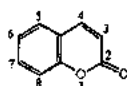
2. TERMINOLOGIA E CLASSIFICAÇÃO

Excetuando-se a 1,2-benzopirona, todas as cumarinas são substituídas por um grupo hidroxila na posição 7. A 7-hidróxi-cumarina, também conhecida como umbeliferona, é a precursora das cumarinas 6,7-di-hidroxiladas e 6,7,8-tri-hidroxiladas. Esses grupos hidroxilas podem ser metilados ou glicosilados. Além disso, é também comum a prenilação em várias posições do esqueleto cumarínico, o que em alguns casos, como na prenilação em C-6 ou C-8, origina as pirano- ou furanocumarinas lineares e angulares, respectivamente. A figura 2 mostra as principais classes de cumarinas e alguns exemplos.

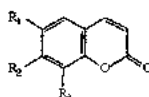
3. BIOGÊNESE

As cumarinas são derivadas do metabolismo da fenilalanina, sendo um dos seus primeiros precursores o ácido *p*-hidróxi-cinâmico (ácido *p*-cumarínico), que é hidroxilado na posição C-2' (*orto*-hidroxilação). O derivado *orto*-hidroxilado sofre isomerização fotocatalizada da ligação dupla (*E*→*Z*). O isômero *Z* lactoniza-se espontaneamente, produzindo a umbeliferona. A prenilação do anel benzênico nas posições 6 ou 8 do derivado 7-hidróxi-cumarina é o passo inicial na biogênese das furano- e piranocumarinas. A ciclização dos derivados 6- ou 8-isoprenilcumarina ocorre por ataque nucleofílico do grupo hidroxila em C-7 ao epóxido formado pela oxidação da ligação dupla do resíduo isopentenila. Dependendo da orientação do ataque nucleofílico, o produto será o hidróxi-isopropil-di-hidrofuranocumarina ou será o hidróxi-dimetil-di-hidropiranocumarina. A maioria das cumarinas são derivadas biogenética-

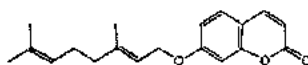
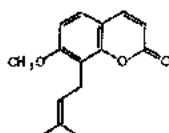
CUMARINAS SIMPLES



cumarina (1,2-benzopirona)

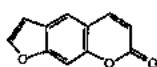
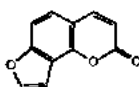
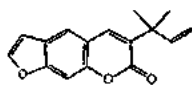


- $R_1 = R_3 = H, R_2 = OH$; umbeliferona
 $R_1 = R_3 = H, R_2 = OCH_3$; hermiarina
 $R_1 = R_2 = OH, R_3 = H$; esculetina
 $R_1 = OCH_3, R_2 = OH, R_3 = H$; escopoletina
 $R_1 = OGlc, R_2 = OH, R_3 = H$; esculina

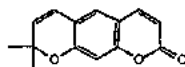


ostol (cumarina C-prenilada) aurapteno (cumarina O-prenilada)

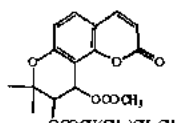
FURANOCUMARINAS

psoraleno
(linear)angelicina
(angular)chalepensina
(linear, prenilada)

PIRANOCUMARINAS

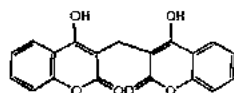


xantiletina (linear)



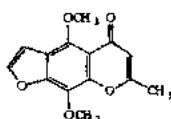
visnadina (angular)

CUMARINA DIMÉRICA



dicumaryl

CROMONA



quercetina (furanocromona)

Figura 2. Exemplos de cumarinas e cromonas

mente da via do ácido chiquímico, mas um número significativo delas parece derivar de uma via mista (ácido chiquímico e acetato) como as 4-fenilcumarinas. As 4-*n*-propilcumarinas, por exemplo, derivam totalmente da via do acetato. A figura 3 mostra a origem biossintética de cumarinas e derivados. As cromonas, embora isoméricas com cumarinas, não são derivados da fenilalanina; origem biogenética provável é a via dos policetídeos (Strack, 1997).

A biogênese de cumarinas pode ser induzida em resposta a um estresse biótico e abiótico, por uma deficiência nutricional, por mensageiros químicos como os hormônios vegetais e por outros metabólitos externos (Cabello-Hurtado et al., 1998). As cumarinas escopoletina e aiapina, por exemplo, encontradas no girassol (*Helianthus annuus* L.), acumulam-se nos tecidos da planta

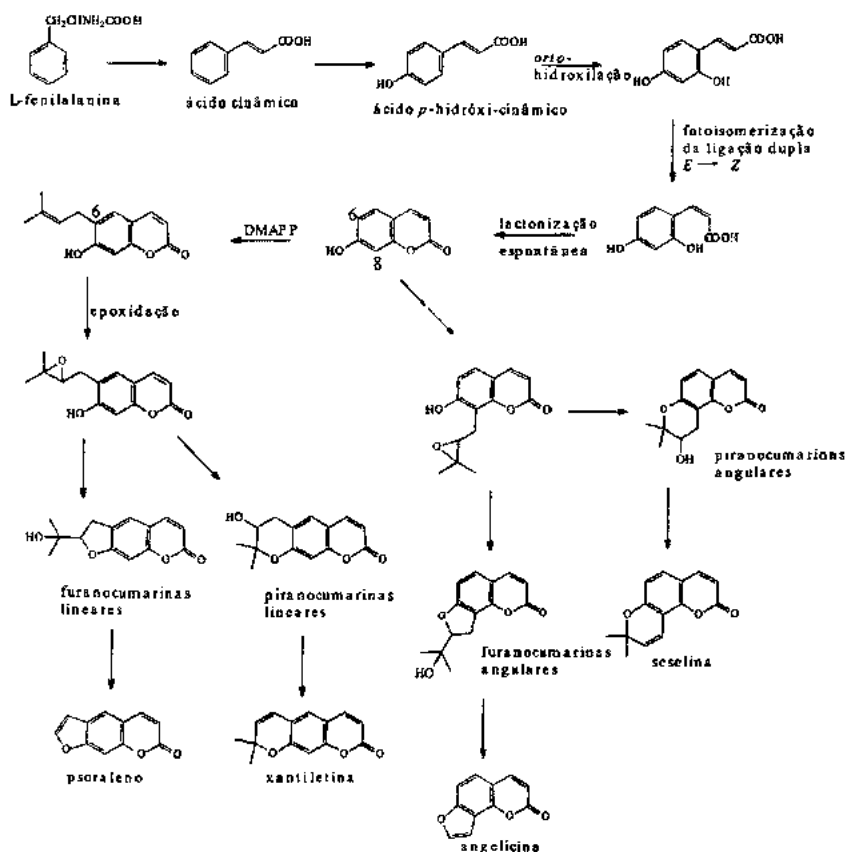


Figura 3. Origem biogenética de cumarinas e derivados

após ter sofrido lesão mecânica, ataque por insetos ou inoculação com fungos. Tem sido mostrado que variedades de girassol com altos níveis dessas cumarinas são resistentes ao ataque de insetos (Carmen-Gutierrez et.al., 1995).

As agliconas xantônicas e seus O-glicosídeos correspondentes possuem um intermediário biossintético do tipo benzofenônico, que é formado por uma unidade C6-C1, obtida pela eliminação de dois carbonos de um precursor C6-C3, formado, por sua vez, por três unidades de acetato (3 unidades de malonilCoA), que serão posteriormente ciclizadas, formando o anel xantônico (Peres e Nagem, 1997). Já as xantonas C-glicosiladas são formadas por uma via biossintética próxima da via de formação dos flavonóides C-glicosilados, o que explica sua maior distribuição no reino vegetal. Diferentemente das agliconas xantônicas e seus derivados O-glicosilados, as xantonas C-glicosiladas são formadas pela incorporação de uma unidade C6-C3 com duas unidades de acetato (2 unidades de malonilCoA) (Franz e Gruen, 1983). A benzofenona assim formada é em seguida C-glicosilada. O anel xantônico é finalmente formado pela ciclização oxidativa do intermediário benzofenônico (Fujita e Inoue, 1980) (figura 4).

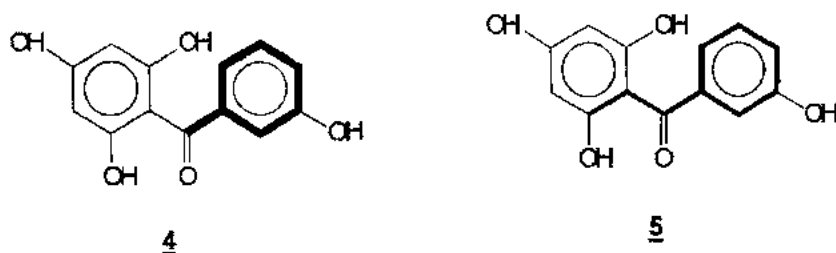


Figura 4. Intermediários biogenéticos xantônicos: unidade C6-C1 4 e unidade C6-C3 5

4. OCORRÊNCIA E DISTRIBUIÇÃO

As cumarinas encontram-se distribuídas predominantemente em angiospermas, sendo as estruturas mais simples as mais encontradas. Furanocumarinas e piranocumarinas lineares e angulares, lignocumarinas, cumarinas diméricas e triméricas são encontradas somente em certas famílias, notadamente as mais primitivas. As famílias mais citadas na literatura pelo conteúdo em cumarinas são: Apiaceae, Rutaceae, Asteraceae, Fabaceae, Oleaceae, Moraceae e Thymeleaceae. Especificamente, com relação às furanocumarinas, estas já foram isoladas e identificadas nas seguintes famílias: Amaranthaceae, Asteraceae, Cyperaceae, Dipsacaceae, Goodeniaceae, Guttiferae, Leguminosae, Moraceae, Pittosporaceae, Rosaceae, Rutaceae, Samydeaceae, Solanaceae e Apiaceae (Evans, 1996).

As agliconas xantônicas se distribuem no reino vegetal de forma significativa, principalmente nas plantas das famílias Guttiferae e Gentianaceae.

São encontradas ainda nas famílias Moraceae e Polygalaceae, ou ainda, em número reduzido, nas famílias Leguminosae, Loganiaceae, Lythraceae e Rhamnaceae. Seus derivados O-glicosilados se encontram unicamente nas famílias Gentianaceae e Polygalaceae. No entanto, seus derivados C-glicosilados apresentam ampla distribuição, podendo ser encontrados não somente em angiospermas, como também em fungos e líquens. Essa distribuição seletiva transforma as xantonas em marcadores sistemáticos, apresentando, assim, uma grande importância taxonômica (Rocha, 1995).

A família Guttiferae se destaca e apresenta um número de xantonas comparáveis com o da família Gentianaceae. Mais da metade das agliconas isoladas de Guttiferae são substituídas por isoprenóides ou geranóides, que podem estar ciclizados ou não. Esse tipo de substituição não é encontrado na família Gentianaceae. A família Moraceae contém xantonas mais próximas daquelas encontradas na família Guttiferae (Sultanbawa, 1980). Plantas da família Polygalaceae apresentam xantonas simples, substituídas por grupos hidroxilas ou metoxilas, como as da família Gentianaceae e também xantonas substituídas por grupos dioximetilênicos e mesmo dímeros (Bashir et al., 1992a e 1992b). As outras famílias raramente apresentam xantonas e, por isso, não apresentam um grande interesse taxonômico. As xantonas C-glicosiladas, contrariamente às demais, são amplamente distribuídas e são encontradas em angiospermas monocotiledôneas e dicotiledôneas e até mesmo em pteridófitas (Richardson, 1983 e 1984).

5. PROPRIEDADES, EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO

As cumarinas podem ser encontradas em todas as partes de uma planta, frequentemente como misturas. O fato de possuírem um anel lactônico pode ser, em alguns casos, vantajoso em processos de extração, visto que, em meio alcalino, ocorre abertura deste anel, proporcionando a obtenção das substâncias na forma de sais solúveis em água. A relactonização ocorre por acidificação do meio aquoso, recuperando-se as cumarinas por extração com solventes orgânicos. Entretanto, muitas cumarinas são sensíveis à ácidos e bases, o que impede o uso deste procedimento (Murray, 1978). Na verdade, com o avanço dos métodos de extração e isolamento, é hoje, na maioria das vezes, desnecessário submeter extratos vegetais a tratamentos químicos preliminares. O desenvolvimento de fases estacionárias diversas para cromatografia em coluna e camada delgada, tais como géis de sílica com fase quimicamente ligada, Sephadex LH-20 e outras, contribuiu para a separação de misturas de cumarinas sensíveis a adsorventes como gel de sílica de fase normal e alumina. Além disso, técnicas cromatográficas mais rápidas como cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), cromatografia líquida de média (CLMP) e baixa pressão (CLBP) e cromatografia a vácuo (Marston e Hostettmann, 1991) possibi-

litam separações em menos tempo e com resoluções superiores aos métodos convencionais em coluna aberta (Härmälä et al., 1992).

As cumarinas possuem um espectro ultravioleta (UV) característico, o qual é fortemente influenciado pela natureza e posição dos grupos substituintes. Desse modo, elas são facilmente visualizadas por cromatografia em camada delgada. As manchas do cromatograma, sob ação da luz UV, aparecem em cores diversas, como azul, amarela e roxa, as quais podem ser realçadas após exposição ao vapor de amônia. A utilização de um cromatógrafo líquido de alta eficiência acoplado a um detector ultravioleta do tipo fotodiodo (CLAE/UV) possibilita detectar em pouco tempo a presença de tipos diferentes de cumarinas em extratos vegetais, sem a necessidade de isolamento prévio. Essa técnica fornece o espectro ultravioleta de cada substância eluída. A quantificação de cumarinas em drogas vegetais é comumente realizada por métodos cromatográficos, como cromatografia gasosa em colunas capilares e cromatografia líquida de alta eficiência, utilizando padrões internos ou externos de escolha (de Vries et al., 1998; Hage & Tweed, 1997).

As xantonas podem ser extraídas do material vegetal com solventes, de acordo com sua polaridade. Quimicamente, são diferentes dos flavonóides, mas são muito similares em suas reações de coloração e em sua mobilidade cromatográfica. Sua presença pode ser detectada por cromatografia em camada delgada pela sua coloração sob luz UV, com ou sem adição de amoníaco, ou quando reveladas com KOH a 5% em MeOH, ou então quando se utilizam reveladores gerais para substâncias fenólicas (Ugaz, 1994). Para seu isolamento, são frequentemente utilizadas técnicas cromatográficas, tais como a filtração em Sephadex LH-20 (Rocha et al., 1994), cromatografia de partição centrífuga (CPC) (Rath et al., 1996), cromatografia em camada fina centrífuga (CTLC) (Hostettmann et al., 1980), cromatografia em contracorrente por gotejamento (DCCC) (Hostettmann et al., 1979), cromatografia líquida a vácuo (VLC) utilizando gel de sílica com adsorvente (Iinuma et al., 1995), cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) com colunas em fase reversa C18 (Rath et al., 1996) ou com colunas "Diol" (Catalano et al., 1996), cromatografia líquida de baixa pressão "Lobar" (LPLC) (Marston et al., 1993), cromatografia líquida de média pressão (MPLC) utilizando coluna em fase reversa C18 (Rodríguez et al., 1995) ou coluna RP-8 (Wolfender et al., 1991), entre outras técnicas.

Diversas técnicas espectroscópicas podem ser utilizadas para a determinação estrutural das xantonas. Os espectros obtidos na região do infravermelho, assim como aqueles de RMN- ^1H e RMN- ^{13}C apresentam sinais característicos para essas substâncias (Ugaz, 1994).

Os espectros de UV das xantonas se distinguem geralmente daqueles apresentados por outros polifenóis, como as flavonas, pela presença de quatro bandas de absorção, frequentemente de intensidade decrescente. O máxi-

mo de absorção dessas quatro bandas situam-se, respectivamente, nos seguintes comprimentos de onda: 225 a 245 nm (banda I), 245 a 270 nm (banda II), 300 a 345 nm (banda III) e 335 a 410 nm (banda IV). De acordo com o esquema de oxidação do anel xantônico, pode aparecer uma banda de absorção suplementar (banda II'), que é observado na região próxima a 275 nm (Lins Mesquita et al., 1968).

A absorção da luz visível na região de 400 nm é responsável pela coloração amarela das xantonas. Vários trabalhos sobre a aplicação da espectroscopia de UV das xantonas, bem como da utilização de reagentes de deslocamento para os polifenóis já foram publicados (Markham, 1965; Lins Mesquita et al., 1968; De Barros Correa et al., 1970). Esses estudos, embora menos aprofundados do que aqueles realizados com flavonóides (Mabry et al., 1970; Markham, 1982), permitem obter informações estruturais sobre a posição das hidroxilas livres no anel xantônico, através dos reagentes de deslocamento como NaOH, NaOAc, NaOAc/H₃BO₃, AlCl₃, AlCl₃/HCl, conforme descrito na literatura acima citada.

6. USOS E PROPRIEDADES FARMACOLÓGICAS

Muitas cumarinas simples possuem odor característico, destacando-se a cumarina, que foi amplamente utilizada como aromatizante em alimentos industrializados. No entanto, com base em dados sobre toxicidade hepática verificada em ratos, a agência americana *Food and Drug Administration* (FDA) a classificou como substância tóxica, passando a considerar sua adição em alimentos como adulteração (Federal Register, v. 19, p. 1239, 03/1954); posteriormente, tal uso foi também banido na Europa. Por outro lado, a cumarina, pelas vantagens decorrentes do seu odor acentuado, estabilidade e baixo custo, continua a ser amplamente utilizada nas indústrias de produtos de limpeza e cosméticos.

Na área de medicamentos destacam-se os derivados da 4-hidróxi-cumarina, descobertos durante a investigação de uma doença hemorrágica no gado alimentado com trevo-de-cheiro-amarelo fermentado (*Melilotus officinalis* Lam.), o que levou à descoberta da ação anticoagulante do dicumarol. Esse foi o primeiro fármaco com essa ação por via oral e constituiu o modelo para o desenvolvimento de uma classe de anticoagulantes com o núcleo básico da 4-hidróxi-cumarina, do qual derivam importantes fármacos como a varfarina, entre outros (Hardman e Limbird, 1996).

A procura por medicamentos de origem vegetal tem conduzido a um renovado interesse farmacêutico em cumarinas, cromonas e xantonas, pelo fato dessas substâncias mostrarem atividades farmacológicas potentes e relevantes e serem de baixa toxicidade para mamíferos (Hoult e Payá, 1996), como exemplificado a seguir.

Para a escoparona **6** (6,7-dimetóxi-cumarina) (figura 5), isolada da planta chinesa *Artemisia scoparia* Waldst. et Kit. (Asteraceae), foram apontadas atividades imunossupressora, relaxante vascular, hipolipidêmica e hipotensora (Hoult e Payá, 1996). O ostol **7** (7-metóxi-8-[3-metilpent-2-enil]cumarina) (figura 5) é uma das substâncias ativas isolada de *Angelica pubescens* Maxim. (Apiaceae), cujos extratos provocaram, em cães, uma resposta hipotensora de curta duração após injeção intravenosa (Hoult e Payá, 1996). Ainda, a substância **7** inibiu a agregação plaquetária e demonstrou atividade relaxante das musculaturas lisa e cardíaca, possivelmente devido à inibição das enzimas cAMP-e cGMP-fosfodiesterases e do influxo de cálcio (Neuhaus-Carlisle et al., 1997). A atividade antiespasmódica de alguns extratos vegetais de espécies de *Viburnum* (Caprifoliaceae) tem sido atribuída ao teor de escopoletina **8** (figura 5) e outras cumarinas (Robbers et al., 1996). Do mesmo modo, diversas di-hidrofurano- e di-hidropiranocumarinas, isoladas de plantas da família Apiaceae, mostraram atividades vasodilatadora, espasmolítica e antitrombótica. Propriedades semelhantes foram também relatadas para uma cumarina sintética denominada cloricromeno **9** (Thastrup et al., 1983; 1985) (figura 5).

Cumarinas contendo grupos di-hidroxilados em posição orto como a fraxetina **10** (7,8-di-hidróxi-6-metoxi-cumarina), esculetina **11** (6,7-di-hidróxi-

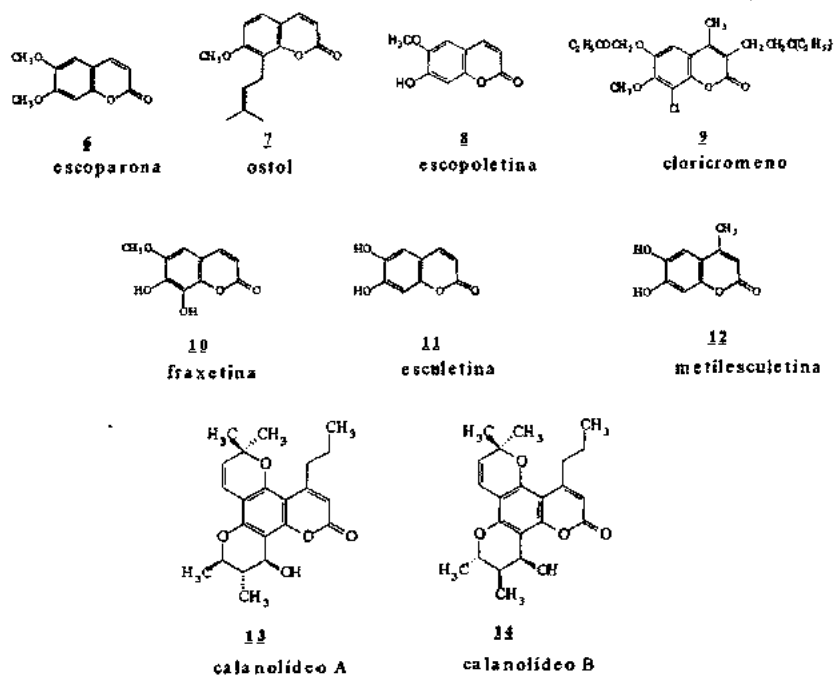


Figura 5. Cumarinas com atividades farmacológicas comprovadas cientificamente.

cumarina) e 4-metilesculetina 12 (6,7-di-hidróxi-4-metilcumarina) (figura 5) são poderosos inibidores da peroxidação lipídica, além de eliminarem o ânion radical superóxido e quelarem íons ferro. Essas propriedades as tornam substâncias de interesse como antioxidantes, de possível aplicação na prevenção de doenças causadas por radicais livres (Martín-Aragón et al., 1996).

Recentemente, algumas cumarinas com atividade anti-HIV foram identificadas a partir de fontes vegetais. Como exemplo, cita-se os calanolídeos A 13 e B 14 (figura 5), isolados das folhas de uma árvore de floresta tropical, *Calophyllum lanigenum* Miq. var. *austrocoriaceum*, família Guttiferae, encontrada na Malásia. Essas substâncias inibiram a replicação *in vitro* do HIV-1, provavelmente por inibição da atividade enzimática da DNA-polimerase dependente de DNA e da DNA-polimerase dependente de RNA presentes no vírus (Vlietinck et al., 1998).

Cumarinas, devido a sua atividade vasodilatadora, podem ser utilizadas no tratamento da impotência masculina. Para ocorrer ereção, as artérias do pênis precisam dilatar para aumentar o fluxo de sangue. As cumarinas osthol, imperatorina, xantotoxina e isopimpinellina em conjunto exibiram propriedades relaxadoras em *corpus cavernosum* de coelhos com endotélio intacto. Essas substâncias foram isoladas de frutos de *Cnidium monnieri* (L.) Cusson, uma planta chinesa usada na impotência masculina (Chiou et al., 2001).

Vários trabalhos científicos já foram realizados evidenciando as importantes atividades farmacológicas apresentadas pelas xantonas. De todas as atividades atribuídas às xantonas, talvez a mais interessante seja a ação inibitória da enzima monoamino-oxidase (MAO), atividade relacionada com o tratamento de estados depressivos. Existem duas formas de MAO: tipo A e tipo B. A MAO A inibe a degradação da serotonina e da noradrenalina e a MAO B inibe a degradação da dopamina. De maneira geral, o estado depressivo pode estar relacionado com uma concentração sináptica muito baixa de neurotransmissores. Esse estado poderia ser alterado pela utilização de um inibidor específico da MAO A, o que aumentaria a concentração sináptica apenas de serotonina e noradrenalina, sem apresentar os efeitos colaterais da inibição da MAO B (Usdin, 1984; Fowler e Ross, 1984). As xantonas têm apresentado um grande potencial de utilização na terapêutica para tratamento de estados depressivos por terem demonstrado atividade inibitória potente, seletiva e reversível da MAO A (Thull e Testa, 1984; Thull et al., 1993). Um estudo visando avaliar a atividade IMAO de 29 xantonas naturais e sintéticas foi realizado em uma tentativa de relacionar a estrutura química das xantonas com essa atividade (Gnerre et al., 2001). As xantonas mostraram ser responsáveis, em grande parte, pela atividade IMAO apresentada pelos extratos de *Hypericum brasiliense* Choisy, Guttiferae, o que justificaria a sua potencial utilização na terapêutica como antidepressivo (Rocha et al., 1994). A atividade de inibição seletiva da MAO-A foi inicialmente descrita para uma

outra espécie desse gênero, o *Hypericum perforatum* L., atividade essa que foi inicialmente atribuída à naftodiantrona hipericina (Suzuki et al., 1984). Estudos posteriores, no entanto, não confirmaram essa atividade para a hipericina (Bladt e Wagner, 1993). Mais recentemente, uma série de trabalhos publicados em um número especial da revista *Pharmacopsychiatry* (Müller e Chatterjee, 1998) indicou o acifloroglucinol hiperforina como componente determinante da atividade antidepressiva. Essa substância, entretanto, mostrou ser responsável por uma indesejável interação com outros medicamentos co-administrados, por aumentar a atividade de enzimas envolvidas na metabolização de drogas. Por essa razão, pacientes que utilizam extratos de *Hypericum perforatum* L. devem utilizar com bastante precaução outros medicamentos co-administrados, principalmente aqueles metabolizados pelo CYP3A4 (Moore et al., 2000).

Diversos trabalhos têm apresentado as xantonas como potenciais substâncias para o tratamento de câncer (Lin et al., 1996b). Xantonas de *Garcinia hamburyi* Hook. f. também apresentaram interessante atividade antineoplásica (Asano et al., 1996). Xantonas isoladas de *Psorospermum febrifugum* Spach mostraram ser responsáveis por uma atividade antileucêmica importante (Pachuta et al., 1986; Liou et al., 1993). A xantona que mostrou ser responsável por essa atividade foi isolada (psorospermina) e o mecanismo de ação de sua atividade antileucêmica foi também determinado (Permana et al., 1994).

Algumas xantonas (naturais e sintéticas) apresentaram ainda atividade antimicrobiana, inclusive contra *Mycobacterium tuberculosis* (Ghosal e Chaudhuri, 1975; Ghosal et al., 1978). Xantonas presentes em extratos de *Garcinia mangostana* L. apresentaram atividade inibitória do crescimento de *Staphylococcus aureus* (Linuma et al., 1996). A calozeloxantona isolada de *Calophyllum lankaensis* A.J.G.H. Kostermans mostrou inibir o crescimento de *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA) (Dharmaratne et al., 1999). Diversos trabalhos demonstrando a atividade antifúngica de xantonas foram também realizados (Rath et al., 1996; Rocha et al. 1994; Pinto et al., 1994). Estudos recentes atribuíram às xantonas uma interessante atividade antimalárica (Likhitwitayawuid et al., 1998). Estudos efetuando a relação estrutura versus atividade foram realizados por Ignatushchenko et al. (1997) e Ignatushchenko et al. (2000).

Diversas outras atividades foram ainda atribuídas às xantonas tais como ação antioxidante (Mahabusarakam et al., 2000; Yoshikawa et al., 1994), inibição da agregação plaquetária (Lin et al., 1996a; Chung et al., 1993), ações hepatoprotetora (Fernandez et al., 1995), antiinflamatória e antagonista do PAF (Lin et al., 1996a; Jantan et al., 2001), e hipoglicêmica (Basnet et al., 1994; Ichiki et al., 1998) e anticonvulsivante (Marona, 1998) entre outras. Por outro lado, a toxicidade das xantonas ainda é pouco estudada, e esse é um dos passos limitantes ao seu emprego terapêutico.

7. FURANOCUMARINAS E FOTOTOXICIDADE

As furanocumarinas são utilizadas desde épocas remotas para o tratamento de doenças da pele, tais como psoríase, hanseníase, vitiligo, leucoderma, micoses, dermatite e eczemas (Diawara e Trumble, 1997). Entretanto, o uso terapêutico dessas substâncias está relacionado à incidência crescente de câncer de pele, o que lhes confere toxicidade. Por isso, sua utilização necessita de uma avaliação risco-benefício rigorosa.

7.1. Toxicidade de furanocumarinas

As furanocumarinas, como a maioria das cumarinas, são substâncias que absorvem fortemente energia na região do ultravioleta (UV) e, por isso, são altamente reativas sob a incidência de luz. A faixa de comprimento de onda para essa fotoreatividade situa-se entre 300 e 400 nm (UVA). Após absorver um fóton, as furanocumarinas formam um estado tripleto excitado, que pode reagir com moléculas, tais como as bases pirimídicas ou com o oxigênio no estado fundamental. Disso resulta a formação de oxigênio singleto ou oxiradicais tóxicos como os radicais superóxido e hidróxi. Essas moléculas podem reagir com DNA, RNA, proteínas e lipídios, ocasionando injúria das células que os contêm. As furanocumarinas ligam-se às bases pirimídicas do DNA (figura 6) causando mutações citoplasmáticas. Essa capacidade das furanocumarinas de reagirem, quando fotoativadas, com os blocos construtores do organismo vivo, constitui a base para a compreensão de sua toxicidade para mamíferos, insetos, vírus, bactérias, fungos e até mesmo para outras plantas (Diawara e Trumble, 1997).

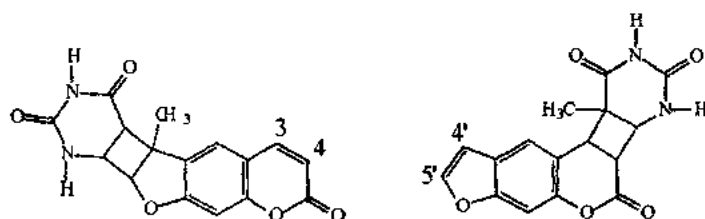


Figura 6. Cicloaductos de furanocumarinas com a base púrica timina

A manifestação mais comum da toxicidade das furanocumarinas em mamíferos é a fitofotodermatite, uma reação epidérmica caracterizada por erupções bolhosas, hiperpigmentação, eritema e formação de vesículas. Elas alcançam a pele por contato direto com vegetais que as contêm (frutas cítricas, por exemplo) ou por ingestão. A reação de fototoxicidade depende da concentração dos compostos cumarínicos existentes no vegetal em questão e, também, da hipersensibilidade individual (Diawara e Trumble, 1997).

7.2. Fotoquimioterapia

A ação de furanocumarinas sobre a pele, quando esta é submetida à ação de raios ultravioleta, pode ser utilizada para o tratamento de enfermidades cutâneas; o uso tópico ou oral é acompanhado por uma exposição controlada à radiação ultravioleta como forma de induzir a repigmentação da pele. A terapia PUVA foi introduzida para o tratamento de várias dermatoses como psoríase, micoses, urticária, eczemas e outras. A furanocumarina mais utilizada é o metoxsaleno (8-metóxi-psoraleno), embora o trioxsaleno (trimetilpsoraleno) seja também empregado. A terapia consiste na ingestão da furanocumarina na dose única de 20 a 40 mg, seguida da irradiação da pele com luz UVA (320 a 380 nm) ou luz solar após 2 horas. A exposição à luz UVA pode ser inicialmente rápida (10 a 15 minutos) e progressivamente prolongada. Os resultados esperados são geralmente obtidos após 20 sessões. O tratamento localizado é possível, entretanto tem de ser conduzido com muita precaução e acompanhado por especialistas, devido ao reconhecido potencial carcinogênico da terapia (Groot et al., 1994) e considerando os potenciais efeitos adversos, tais como catarata e degeneração actínica da pele (Diawara e Trumble, 1997). A grande vantagem da fotoquimioterapia são os inúmeros efeitos colaterais produzidos, tais como eritema, formação de bolhas, náuseas, prurido, dor de cabeça e depressão, o que provoca a descontinuação do tratamento. A terapia PUVA é contra-indicada para mulheres grávidas e crianças, em casos de distúrbios cutâneas agravadas pela luz, e em casos de insuficiência renal e cardíaca (Lindelöf et al., 1991).

8. DROGAS VEGETAIS CLÁSSICAS

ÂMIO

Nome científico: *Ammi visnaga* (L.) Lam.

Família botânica: Apiaceae

Parte usada: frutos

Monografias farmacopéicas: DAB 8

A droga consiste dos frutos deste vegetal, que cresce nos países do Mediterrâneo. O uso tradicional na Europa tem sido para aliviar as dores em casos de cólicas renais e outros distúrbios do trato urinário. No entanto, a Comissão E da Alemanha, após uma avaliação inicial positiva em 1986, em que foi considerada apropriada para o tratamento de distúrbios cardiovasculares e do trato urinário, em 1994 passou a não recomendar o seu uso terapêutico, considerando a eficácia não comprovada e os possíveis riscos de sua utilização, tendo em vista relatos de toxicidade hepática e reações pseudoalérgicas (Blumenthal et al., 1998; Schulz et al., 1998).

Os constituintes característicos da droga são as furanocromonas: quelina, visnagina, quelol e quelinol e as piranocumarinas angulares: visnadina, samidina e di-hidrosamidina. Os frutos imaturos possuem teores mais elevados de quelina e visnagina. A cromatografia líquida de alta eficiência tem sido utilizada para a determinação quantitativa das cumarinas e cromonas farmacologicamente importantes nos frutos desta planta e em formulações farmacêuticas (El-Domiaty, 1992). Frutos de outra espécie de *Ammi* denominada *Ammi majus* L. são utilizados como fonte de furanocumarinas, principalmente de xantotoxina (8-metóxi-psoraleno), substância utilizada para o tratamento do vitiligo e da psoríase, como descrito no item 7 deste capítulo.

ANGÉLICA

Nome científico: *Angelica archangelica* L.

Família botânica: Apiaceae

Parte usada: raízes e rizomas secos

Monografias farmacopéicas: Ph. Bras. I

Radix Angelicae é uma droga clássica, do tipo amargo-aromática, obtida por cultivo da variedade *Angelica archangelica* L. var. *archangelica*. O uso tradicional é como estomáquico: como estimulante do apetite e carminativo, recomendado em desconforto gástrico como flatulência e sensação de plenitude (Blumenthal et al., 1998; Schulz et al., 1998).

Componentes característicos da droga são o óleo volátil (0,3 a 0,6%, com predominância de hidrocarbonetos monoterpênicos), cumarinas simples e furanocumarinas lineares e angulares (Teuscher, 1990), além de lactonas macrocíclicas, ácidos fenólicos, flavonóides e esteróides. As cumarinas encontradas em espécies de angélica apresentaram vários efeitos farmacológicos, destacando-se os efeitos como vasodilatadores coronarianos e antagonistas do cálcio (Härmälä et al., 1992).

Devido à presença de furanocumarinas, que podem determinar reações de fotossensibilidade, a utilização terapêutica dessa droga não apresenta relação risco-benefício aceitável (ver item 7 deste capítulo).

TREVO

Nome científico: *Melilotus officinalis* Lam. e ou *Melilotus altissimus* Thuill.

Família botânica: Fabaceae

Parte usada: folhas e sumidades floridas

Monografias farmacopéicas: Ph. Fr. X

A droga é utilizada tradicionalmente no tratamento de distúrbios provocados por insuficiência venosa crônica (Blumenthal et al., 1998). Algumas espécies são ainda importantes do ponto de vista agrônomo, destacando-se o trevo-de-cheiro-branco (*Melilotus albus* Medik.), trevo-de-cheiro-amarelo

(*Melilotus officinalis* Lam.) e o trevo-azedo (*Melilotus indicus* (L.) All.), todos usados como pastagem, adubo, forragem e silagem. Todas as espécies de *Melilotus* contêm, principalmente nas folhas jovens, o melilotosídeo (glicosídeo do ácido 2'-hidróxi-cinâmico), que se hidrolisa facilmente e, por lactonização, forma a cumarina. Além disso, contém ácido o-cumárico e flavonóides. O dicumarol, um potente anticoagulante, pode ser obtido a partir do ácido o-hidróxi-cinâmico, e é também encontrado nas folhas imprópriamente fermentadas e nas inflorescências de *Melilotus officinalis*. Sob certas condições, tal como a acumulação de mofo nas forragens, a cumarina é convertida no dicumarol, que interfere no mecanismo de coagulação sangüínea, conduzindo assim, a processos hemorrágicos. Os sintomas de envenenamento dos animais que comeram essa pastagem fermentada estão relacionados com a perda demasiada de sangue, surgindo edemas sob a pele, devido à acumulação de sangue e hemorragias internas, seguidas de choque e óbito.

CITROS

Nome científico: *Citrus aurantium* L. e *Citrus medica* L.

Família botânica: Rutaceae

Parte usada: frutos imaturos

Monografias farmacopéicas: Ph. Bras. I, F. Bras. II

O gênero *Citrus* (Rutaceae) compreende árvores frutíferas de origem oriental e é onde se encontra grande número de citações sobre as propriedades terapêuticas destas plantas. De uma maneira geral, elas são utilizadas em problemas de baço e estômago, manifestados na forma de distensão abdominal e epigástrica, náusea, vômito e perda de apetite. Os constituintes químicos predominantes desses vegetais são flavonóides, cumarinas e terpenos. A indústria farmacêutica os utiliza como fonte de flavonóides (diosmina e rutina), utilizados no tratamento da insuficiência venosa e como flavorizante. O sumo e as cascas dos frutos cítricos contêm furanocumarinas que, em contato com a pele, podem causar lesões de cor escura devido à fototoxicidade destas substâncias (Naganuma et al., 1985; Nigg et al., 1993).

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ASANO, J.; CHIBA, K.; TADA M.; YOSHII, T. Cytotoxic xanthenes from *Garcinia hamburyi*. *Phytochemistry*, v. 41, p. 815-820, 1996.
- BASHIR, A.; HAMBURGER, M.; MSONTHI, J.D.; HOSTETTMANN, K. Isoflavones and xanthenes from *Polygala virgata*. *Phytochemistry*, v. 31, p. 309-311, 1992a.
- BASHIR, A.; HAMBURGER, M.; GUPTA, M.P.; SOLIS, P.; HOSTETTMANN, K. Biphenyl and a xanthone from *Monnina sylvatica*. *Phytochemistry*, v. 31, p. 3203-3205, 1992b.
- BASNET, P.; KADOTA, S.; SHIMIZU, M.; NAMBA, T. Bellidifolin: a potent hypo-

- glycemic agent in streptozotocin (STZ)-induced diabetic rats from *Swertia japonica*. *Planta Medica*, v. 60, p. 507-511, 1994.
- BLADT, S.; WAGNER, H. Mao-Hemmung durch Fraktionen und Inhaltsstoffe von *Hypericum-Extrakt*. *Nervenheilkunde*, v. 12, p. 349, 1993.
- BLUMENTHAL, M.; BUSSE, W.R.; GOLDBERG, A.; GRUENWALD, J.; HALL, T.; RIGGINS, C.W.; SISTER, R.S. (ed.) *The complete German Commission E monographs. Therapeutic guide to herbal medicines*. Austin: American Botanical Council, 1998. pp.313-314.
- CABELLO-HURTADO, F.; DURST, F.; JORRÍN, J.V.; WERCK-REICHHART, D. Coumarins in *Helianthus tuberosus*: characterization, induced accumulation and biosynthesis. *Phytochemistry*, v. 49, p. 1029-1036, 1998.
- CARMEN-GUTIERREZ, M.; PARRY, A.; TENA, M.; JORRIN, J.; EDWARDS, R. Abiotic elicitation of coumarin phytoalexins in sunflower. *Phytochemistry*, v. 38, p. 1185-1191, 1995.
- CARPENTER, I.; LOCKSLEY, H.; SCHEIMANN, F. Xanthenes in higher plants: biogenetic proposals and a chemotaxonomic survey. *Phytochemistry*, v. 8, p. 2013-2025, 1969.
- CATALANO, S.; LUSCHI, S.; FLAMINI, G.; CIONI, P.L.; NIERI, E.M.; MORELLI, I. A xanthone from *Senecio mikanioides* leaves. *Phytochemistry*, v. 42, p. 1605-1607, 1996.
- CHIOU, W.F.; HUANG, Y.L.; CHEN, C.F.; CHEN, C.C. Vasorelaxing effect of coumarins from *Cnidium monnieri* on rabbit corpus cavernosum. *Planta Medica*, v. 67, p. 282-284, 2001.
- CHUNG, M.I.; GAN, K.H.; LIN, C.N.; KO, F.N.; TENG, C.M. Antiplatelet effects and vasorelaxing action of some constituents of Formosan plants. *J. Nat. Prod.*, v. 56, n. 6, p. 929-934, 1993.
- DE BARROS CORREA, D.; FONSECA E SILVA, L.G.; GOTTLIEB, O.R.; GONÇALVES, S.J. Quinone and xanthone constituents of *Kielmeyera rupestris*. *Phytochemistry*, v. 9, p. 447-451, 1970.
- DHARMARATNE, H.R.W.; WIJESINGHE, W.M.N.M.; THEVANASEM, V. Antimicrobial activity of xanthenes from *Calophyllum* species, against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Journal of Ethnopharmacology*, v. 66, p. 339-342, 1999.
- DE VRIES, J.X.; TAUSCHER, B.; WURZEL, G. Constituents of *Justicia pectoralis* Jacq. 2. Gas chromatography / mass spectrometry of simple coumarins, 3-phenylpropionic acids and their hydroxy and methoxy derivatives. *Biomed. Environ. Mass Spectrom.*, v. 15, p. 413-417, 1988.
- DIAWARA, M.M.; TRUMBLE, J.T. Linear furanocoumarins. In: FELIX D'MELLO, J.P. (ed.). *Handbook of plant and fungal toxicants*. Boca Raton: CRC, 1997.
- EL-DOMIATY, M.M. Improved high-performance liquid chromatography determination of khellin and visnagin in *Ammi visnaga* fruits and pharmaceutical formulations. *J. Pharm. Sci.*, v. 81, p. 475-478, 1992.
- EVANS, W.C. *Trease and Evans' Pharmacognosy*. 14.ed. London: WB Saunders, 1996.
- FERNANDEZ, E.R.; CARVALHO, F.D.; REMIÃO, F.G.; BASTOS, M.L.; PINTO, M.M.; GOTTLIEB, O.R. Hepatoprotective activity of xanthenes and xanthonolignoids against tert-butylhydroperoxide-induced toxicity in isolated rat hepatocytes - comparison with silybin. *Pharm. Res.*, v. 12, n. 11, p. 1756-1760, 1995.

- FOWLER, C.J.; ROSS, S.B. Intra and extraneuronal monoamine oxidase. *Blood Vessels*, v. 21, p. 126-131, 1984.
- FRANCHI, G.G.; BOVALINI, L.; MARTELLI, P.; FERRI, S.; SBARDELLATI, E. High performance liquid chromatography analysis of the furanochromones khellin and visnagin in various organs of *Ammi visnaga* (L.) Lam. at different developmental stages. *J. Ethnopharmacol.*, v. 14, p. 203-212, 1985.
- FRANZ, G.; GRUEN, M. Chemistry, occurrence and biosynthesis of C-glycosyl compounds in plants. *Planta Medica*, v. 47, p. 131-140, 1983.
- FUJITA, M.; INOUE, T. Biosynthesis of mangiferin in *Anemarrhena asphodeloides* Binge. I. The origin of the xanthone nucleus. *Chem. Pharm. Bull.*, v. 28, p. 2476-2481, 1980.
- GHOSAL, S.; CHAUDHURI, R.K. Chemical constituents of Gentianaceae. XVI, p. Antitubercular activity of xanthenes of *Canscora decussata* Schult. *J. Pharm. Sci.*, v. 64, p. 888-889, 1975.
- GHOSAL, S.; BISWAS, K.; CHAUDHURI, R.K. Anti-*Mycobacterium tuberculosis* activity of naturally occurring xanthenes and synthetic analogs. *J. Pharm. Sci.*, v. 67, p. 1978, 1978.
- GNERRE, C.; THULL, U.; GAILLARD, P.; CARRUPT, P.; TESTA, B.; FERNANDEZ, E.; SILVA, F.; PINTO, M.; PINTO, M.M.; WOLFENDER, J.L.; HOSTETTMANN, K.; CRUCIANI, G. Natural and synthetic xanthenes as monoamine oxidase inhibitors: biological assay and 3D-QSAR. *Helv. Chim. Acta*, v. 84, p. 552-570, 2001.
- GROOT, A.C.; WEYLAND, J.W.; NATER, J.P. (ed.). *Unwanted effects of cosmetics and drugs used in dermatology*. Amsterdam, p. Elsevier, 1994. Chapter 18, p. 295-327.
- HAGE, D.S.; TWEED, S.A. Recent advances in chromatographic and electrophoretic methods for the study of drug-protein interactions. *Journal of Chromatography Biomedical Biomedicine Science Applications*, v. 699, p. 499-525, 1997.
- HARDMAN, J.G.; LIMBIRD, L.E. (ed.) *Goodman e Gilman's. The pharmacological basis of therapeutics*. 9.ed. New York: McGraw Hill, 1996.
- HÄRMÄLÄ, P.; VUORELA, H.; HILTUNEN, R.; NYIREDY, SZ.; STICHER, O.; TÖRNQUIST, K.; KALTIA, S. Strategy for the isolation and identification of coumarins with calcium antagonistic properties from the roots of *Angelica archangelica*. *Phytochem. Anal.*, v. 3, p. 42-48, 1992.
- HOSTETTMANN, K.; HOSTETTMANN, M.; STICHER, O. A rapid preparative separation of natural products by centrifugal thin-layer chromatography. *J. Chromatography*, v. 202, p. 154-156, 1980.
- HOSTETTMANN, K.; HOSTETTMANN, M.; STICHER, O. Preparative scale separation of xanthenes and iridoid glycosides by droplet counter-current chromatography. *Helv. Chim. Acta*, v. 62, p. 2079-2085, 1979.
- HOULT, J.R.S.; PAYÁ, M. Pharmacological and biochemical actions of simple coumarins: natural products with therapeutic potential. *Gen. Pharmacol.*, v. 27, p. 713-722, 1996.
- ICHIKI H.; MIURA T.; KUBO M.; ISHIHARA E.; KOMATSU Y.; TANIGAWA K.; OKADA M. New antidiabetic compounds, mangiferin and its glucoside. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, v. 21, p. 1389-1390, 1998.
- IGNATUSHCHENKO, M.V.; WINTER, R.W.; RISCOE, M. Xanthenes as antimalarial agents: stage specificity. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 62, p. 77-81, 2000.

- IGNATUSHCHENKO, M.V.; WINTER, R.W.; BACHINGER, H.P.; HINRICHS, D.J.; RISCOE, M.K. Xanthonas as antimalarial agents; studies of a possible mode of action. *FEBS Lett.*, v. 409, n. 1, p. 67-73, 1997.
- IINUMA, M.; TOSA, H.; TANAKA, T.; ASAI, F.; SHIMANO, R. Three xanthonas from root bark of *Garcinia subelliptica*. *Phytochemistry*, v. 38, p. 247-249, 1995.
- JANTAN, I.; JURIYATI, J.; WARIF, N.A. Inhibitory effects of xanthonas on platelet activating factor receptor binding *in vitro*. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 75, p. 287-290, 2001.
- LIKHITWITAYAWUID, K.; PHADUNGCHAROEN, T.; KRUNGKRAI, J. Antimalarial xanthonas from *Garcinia cowa*. *Planta Medica*, v. 64, p. 70-72, 1998.
- LIN, C.N.; HSIEH, H.K.; LIOU, S.J.; KO, H.H.; LIN, H.C.; CHUNG, M.I.; KO, F.N.; LIU, H.W.; TENG, C.M. Synthesis and antithrombotic effect of xanthone derivatives. *J. Pharm. Pharmacol.*, v. 48, n. 9, p. 887-890, 1996a.
- LIN, C.N.; LIOU, S.J.; LEE, T.H.; CHUANG, T.C.; WON, S.J. Xanthonas derivatives as potential anti-cancer drugs. *J. Pharm. Pharmacol.*, v. 48, n. 5, p. 539-544, 1996b.
- LINDELÖF, B.; SIGURGEIRSSON, B.; TEGNER, E.; LARKÖ, O.; JOHANNESSEN, A.; BERNE, B.; CHRISTENSEN, O.B.; ANDERSSON, T.; TÖRNGREN, M.; MOLIN, L.; NYLANDER-LUNDQUIVIST, E.; EMTESTAM, L. PUVA and cancer: a large-scale epidemiological study. *Lancet*, v. 338, p. 91-93, 1991.
- LINS MESQUITA, A.A.; DE BARROS CORREA, D.; GOTTLIEB, O.R.; TAVELRA MAGALHAES, M. Methods for the structural investigation of xanthonas: Part II. Location of hydroxyl groups by ultraviolet and visible spectroscopy. *Anal. Chim. Acta*, v. 42, p. 311-323, 1968.
- LINUMA, M.; TOSA, H.; TANAKA, T.; ASAI, F.; KOBAYASHI, Y.; SHIMANO, R.; MIYAUCHI, K. Antibacterial activity of xanthonas from Guttiferae plants against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J. Pharm. Pharmacol.*, v. 48, n. 8, p. 861-865, 1996.
- LIOU, S.S.; SHIEH, W.L.; CHENG, T.H.; WON, S.J.; LIN, C.N. Gamma-pyrone compounds as potential anti-cancer drugs. *J. Pharm. Pharmacol.*, v. 45, n. 9, p. 191-194, 1993.
- LOWE, N.J. Cutaneous phototoxicity reactions. *Br. J. Dermatol.*, v. 115 (Suppl 31), p. 86-92, 1986.
- MABRY, T.J.; MARKHAM, K.R.; THOMAS, M.B. *The systematic identification of flavonoids*. New York: Springer, 1970.
- MAHABUSARAKAM, W.; PROUDFOOT, J.; TAYLOR, W.; CROFT, K. Inhibition of lipoprotein oxidation by prenylated xanthonas derived from mangostin. *Free Radical Research*, v. 33, p. 643-659, 2000.
- MARKHAM, K.R. Gentian pigments III. Penta-oxygenated xanthonas from *Gentiana bellidifolia*. *Tetrahedron*, v. 21, p. 3687-3695, 1965.
- MARKHAM, K.R. *Techniques of flavonoid identification*. London: Academic, 1982.
- MARONA, H. Evaluation of some 2-substituted derivatives of xanthone for anticonvulsant properties. *Pharmazie*, v. 53, p. 405-409, 1998.
- MARSTON, A.; HAMBURGER, M.; DORDAT-DISERENS, I.; MSONTHI, J.D.; HOSTETTMANN, K. Xanthonas from *Polygala nyikensis*. *Phytochemistry*, v. 33, p. 809-812, 1993.
- MARSTON, A.; HOSTETTMANN, K. Modern separation methods. *Nat. Prod. Rep.*, p. 391-413, 1991.

- MARTÍN-ARAGÓN, S.; BENEDÍ, J.; VILLAR, A. Oxygen active species-scavenger properties of coumarins. *Phytother. Res.*, v. 10, p. S75-S78, 1996.
- MOORE, L.B.; GOODWIN, B.; JONES, S.A.; WISELY, G.B.; SERABJIT-SINGH, C.J.; WILLSON, T.M.; COLLINS, J.L.; KIEWER, S.A. St. John's Wort induces hepatic drug metabolism through activation of the pregnane x receptor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, v. 97, p. 7500-7502, 2000.
- MÜLLER, W.E.; CHATTERJEE, S.S. Hyperforin and the antidepressant activity of St. John's Wort. *Pharmacopsychiatry*, v. 31 (Supp. I), p. 1-60, 1998.
- MURRAY, R.D.H. Naturally occurring plant coumarins. *Prog. Chem. Org. Nat. Prod.*, v. 35, p. 199-429, 1978.
- NAGANUMA, M.; HIROSE, S.; NAKAYAMA, Y.; NAKAJIMA, K.; SOMEYA, T. A study of the phototoxicity of lemon oil. *Arch. Dermatol. Res.*, v. 278, p. 31-36, 1985.
- NEUHAUS-CARLISLE, K.; VIERLING, W.; WAGNER, H. Screening of plant extracts and plant constituents for calcium-channel-blocking activity. *Phytomedicine*, v. 4, p. 67-69, 1997.
- NIGG, H.N.; NORDBY, H.E.; BEIER, R.C.; DILLMAN, A.; MACIAS, C.; HANSEN, R.C. Phototoxic coumarins in limes. *Food Chem. Toxicol.*, v. 31, p. 331-335, 1993.
- PACHUTA, R.R.; COOKS, R.G.; CASSADY, J.M.; CONG, P.; MCCLOUD, T.G.; CHANG, C.J. Antineoplastic agents from higher plants: application of tandem mass spectroscopic to xanthenes from *Psorospermum febrifugum*. *J. Nat. Prod.*, v. 49, n. 3, p. 412-423, 1986.
- PERES, V.; NAGEM, T.J. Naturally occurring pentaoxygenated, hexaoxygenated and dimeric xanthenes: a literature survey. *Química Nova*, v. 20, n. 4, p. 388-397, 1997.
- PERMANA, P.A.; HO, D.K.; CASSADY, J.M.; SNAPKA, R.M. Mechanism of action of the antileukemic xanthone psorospermim: DNA strand breaks, abasic sites, and protein-DNA cross-links. *Cancer Res.*, v. 54, n. 12, p. 3191-3195, 1994.
- PINTO, D.C.; FUZZATI, N.; PARMINO, X.C.; HOSTETTMANN, K. Xanthone and antifungal constituents from *Monnina obrusifolia*. *Phytochemistry*, v. 37, p. 875-878, 1994.
- RATH, G.; POTTERAT, O.; MAVI, S.; HOSTETTMANN, K. Xanthenes from *Hypericum roeperatum*. *Phytochemistry*, v. 43, p. 513-520, 1996.
- REYNOLDS, J.E.F. (ed.) *Martindale. The Extra Pharmacopoeia*. 30. ed., London: Pharmaceutical, 1993.
- RICHARDSON, P.D. The taxonomic significance of C-glucosylxanthenes in flowering plants. *Biochem. Syst. Ecol.*, v. 11, p. 371-375, 1983.
- RICHARDSON, P.D. The taxonomic significance of xanthenes in ferns. *Biochem. Syst. Ecol.*, v. 12, p. 1-6, 1984.
- ROBBERS, J.E.; TYLER, V.E.; SPEEDIE, M.K. *Pharmacognosy & Pharmacobiotechnology*. New York: William & Wilkin, 1996.
- ROBERTS, J.C. Naturally occurring xanthenes. *Chem. Rev.*, v. 61, p. 591-605, 1961.
- ROCHA, L.; MARSTON, A.; KAPLAN, M.A.C.; STOECKLI EVANS, H.; THULL, U.; TESTA, B.; HOSTETTMANN, K. An antifungal gamma-pyrone and xanthenes with monoamine oxidase inhibitory activity from *Hypericum brasiliense*. *Phytochemistry*, v. 36, p. 1381-1385, 1994.
- ROCHA, L. *Investigation phytochimique de Hypericum brasiliense (Guttiferae)*. Lausanne: Escola de Farmácia, Universidade de Lausanne, Suíça, 1995. Tese de Doutorado.

- RODRIGUEZ S.; WOLFENDER, J.L.; ODONTUYA G.; PUREV, O.; HOSTETT-MANN, K. Xanthones, secoiridoids and flavonoids from *Halenia corniculata*. *Phytochemistry*, v. 40, p. 1265-1272, 1995.
- SCHULZ, V.; HÄNSEL, R.; TYLER, V.E. *Rational phytotherapy. A physicians' guide to herbal medicine*. 3.ed. Berlin: Springer, 1998. p. 224.
- STRACK, D. Phenolic metabolism. In: DEY, P.M.; HARBORNE, J.B. (ed.). *Plant biochemistry*. London: Academic, Cap.10, p.387-416, 1997.
- SULTANBAWA, M.U. Xanthonoids of tropical plants. *Tetrahedron*, v. 36, p. 1465-1506, 1980.
- SUZUKI, O.; KATSUMATA, Y.; OYA, M.; BLADT, S. E.; WAGNER, H. Inhibition of monoamine oxidase by hypericin. *Planta Medica*, v. 50, p. 272-274, 1984.
- THASTRUP, O.; FJALLAND, B.; LEMMICH, J. Coronary vasodilatory, spasmolytic and cAMP-phosphodiesterase inhibition properties of dihydropyrancoumarins and dihydrofuranocoumarins. *Acta Pharmacol. Toxicol.*, v. 52, p. 246-253, 1983.
- THASTRUP, O.; KNUDSEN, J.B.; LEMMICH, J.; WINTHER, K. Inhibition of human platelet aggregation by dihydropyrano- and dihydrofuranocoumarins, a new class of cAMP-phosphodiesterase inhibitors. *Biochem. Pharmacol.*, v. 34, p. 2137-2140, 1985.
- THULL, U.; TESTA, B. Screening of unsubstituted cyclic compounds as inhibitors of monoamine oxidases. *Biochem. Pharmacol.*, v. 47, p. 12, p. 2307-2310, 1984.
- THULL, U.; KNEUBUHLER, S.; TESTA, B.; BORGES, M.F.; PINTO, M.M. Substituted xanthones as selective and reversible monoamine oxidase A inhibitors. *Pharm. Res.*, v. 10, n. 8, p. 1187-1190, 1993.
- UGAZ, O.L. *Investigación fitoquímica. Métodos en el estudio de productos naturales*. Lima: Pontificia Universidad Católica del Perú, 1994.
- USDIN, E. Monoamine oxidase, basic and clinical frontiers. *Proc. Symp. Hakone Japan, Excerpta Medica*, p. 315-354, 1984.
- VLIENTINCK, A.J.; DE BRUYNE, T.; APERS, S.; PIETERS, L.A. Plant-derived leading compounds for chemotherapy of human immunodeficiency virus (HIV) infection. *Planta Medica*, v. 64, p. 97-109, 1998.
- YOSHIKAWA, M.; HARADA, E.; MIKI, A.; TSUKAMOTO, K.; LIANG, S.Q.; YAMAHARA, J.; MURAKAMI, N. Antioxidant constituents from the fruit hulls of mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) originating in Vietnam. *Yakugaku Zasshi*, v. 114, p. 129-133, 1994.

10. SUGESTÕES PARA LEITURA

- BRUNETON, J. *Pharmacognosy, phytotherapy, medicinal plants*. 2.ed. Paris: Technique e Documentation Lavoisier, 1995.
- O'KENNEDY, R.; THORNES, R.D. *Coumarins biology: biology, applications and mode of action*. London: John Wiley e Sons, 1997.

LIGNANAS, NEOLIGNANAS E SEUS ANÁLOGOS

AUTOR

José Maria Barbosa Filho

SUMÁRIO DO CAPÍTULO

1. Introdução
2. Terminologia e classificação
3. Estruturas básicas e numeração
4. Biogênese
5. Ocorrência e distribuição
6. Atividades biológicas
7. Propriedades, obtenção e análise
8. Drogas vegetais clássicas
9. Referências bibliográficas
10. Sugestões para leitura

1. INTRODUÇÃO

As ligninas são substâncias que se depositam nas paredes das células vegetais, conferindo a estas notável rigidez. Formam de 15-35% da matéria seca dos troncos de gimnospermas e angiospermas arborescentes, além de serem constituintes da parede celular de tecidos associados a caule, folha e raiz de todas as plantas vasculares, inclusive herbáceas. A quantidade de ligninas existente na superfície da terra é imensa, inferior apenas à quantidade de carboidratos. Dada esta importância, compreende-se facilmente porque ocorrência, função, formação, estrutura, reações e utilização de ligninas recebem tanta atenção.

As ligninas são macromoléculas, polímeros de unidades básicas C_6 - C_3 , abrangendo, usualmente, muitas unidades fenilpropânicas. Neste capítulo serão abordadas as micromoléculas mais simples, as lignanas, neolignanas e seus análogos, produtos do metabolismo secundário e responsáveis inclusive por uma gama de atividades biológicas interessantes. Para uma visão mais abrangente sobre ligninas, consultar as seguintes referências: Freudenberg e Neish (1968), Sarkkanen e Ludwig (1971), Adler (1977) e Abreu (1994).

2. TERMINOLOGIA E CLASSIFICAÇÃO

Lignóide é uma designação genérica, que caracteriza micromoléculas, cujo esqueleto é formado exclusivamente pelo grupo fenilpropânico (C_6 - C_3) $_n$, sendo n restrito a poucas

unidades, 1, 2, 3, etc. Os lignóides subdividem-se nos grupos a seguir relacionados. Estruturas representativas para cada grupo são apresentadas na figura 1.

a) *Lignanas* (Do latim *lignum* = madeira, lenho) são dímeros formados através do acoplamento oxidativo de álcoois cinâmílicos entre si ou destes com ácidos cinâmicos. Esse termo, criado em 1942 por Haworth, se prestava muito bem para as poucas substâncias descritas até aquela época. Estruturalmente, os dois resíduos *n*-propilbenzênicos apresentam o carbono gama (C-9) oxigenado, como o pinoresinol isolado de espécies de *Picea*, *Pinus* e *Abies*, ciclotariciresinol de *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze e o álcool dihidrodiconiferílico de *Larix leptolepis* (Siebold et Zucc.) Gordon.

b) *Neolignanas* (Do grego *néos* = novo, moderno) por causa da crescente variabilidade estrutural a definição de Haworth ficou limitada, o que levou Gottlieb, em 1978, a criar o grupo das neolignanas, que são dímeros oxidativos de alil fenóis e de propenil fenóis, entre si ou cruzados e não apresentam o carbono gama (C-9) oxigenado, como, por exemplo, grandisina isolada de *Licaria aurea* (Huber) Kosterm., otobafenol de *Osteophloeum platyspermum* (Spruce ex A. DC.) Warb. e licarina A de *Nectandra glabrescens* Benth.

c) *Alolignanas* (Do grego *állos* = um outro) são dímeros mistos de arilpropanóides ou seja, um dos monômeros apresenta o C-9 oxigenado e o outro, não. O termo alolignana não possui conotação biossintética, sendo uma designação meramente estrutural, visto que o dímero que apresenta um dos carbonos gama oxigenado, não necessariamente apresenta acoplamento cruzado entre alil ou propenil fenóis com álcoois cinâmílicos ou ácidos cinâmicos, pois tais substâncias poderiam ser formadas pela oxidação seletiva de uma neolignana, ou pela redução seletiva de uma lignana, por exemplo, furoguaiacidina de *Guaiacum officinale* L., o ácido junaftóico de *Juniperus sabina* L. e carinatol de *Viola carinata* (Benth.) Warb.

d) *Norlignanas* (*Nor* = prefixo comumente usado na nomenclatura química para indicar a remoção de um átomo de carbono de um esqueleto bem definido) é qualquer substância pertencente a um dos grupos acima, com um átomo de carbono a menos em um dos precursores primários, como por exemplo, criptoresinol de *Cryptomeria japonica* (L. f.) D. Don, hidróxi-antrotaxina de *Metasequoia glyptostroboides* Hu et W. C. Cheng e rataniafenol I de *Krameria interior* Rose et Painter e *Krameria triandra* Ruiz et Pav.

e) *Oligolignóides* (Do grego *olígos* = pouco) são os oligômeros de lignóides, ou seja, os produtos resultantes da condensação de três a cinco unidades fenilpropanóídicas, como, por exemplo, o trímero herpetetradiona e o tetrâmero herpetetrol, ambos isolados de *Herpetospermum caudigerum* Wall. ex Chakr. e também designados como sesquilignana e dilignana, respectivamente, em analogia à nomenclatura dos terpenóides.

f) *Heterolignóides* (Do grego *héteros* = diferente) são constituídos de mo-

léculas de estruturas diversas, como, por exemplo, um lignóide acoplado a uma outra classe de produtos naturais, como a quielcorina isolada de *Kielmeyera coriacea* Mart., um xantonolignóide, a propacina isolada de *Protium opacum* Swart, um cumarinolignóide, e o complexo lignana-iridóide-glicosilado isolado de *Buddleja davidii* Franch.

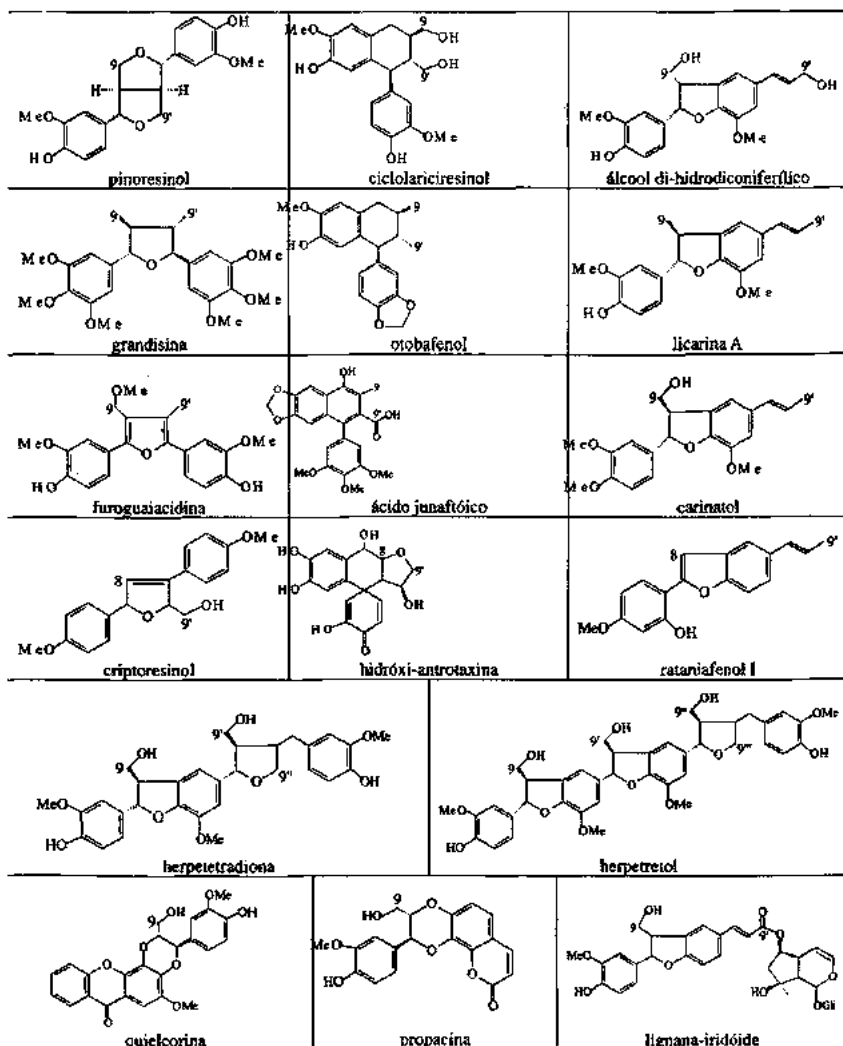
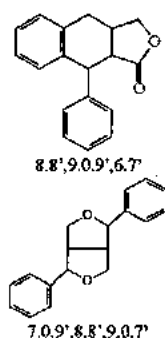
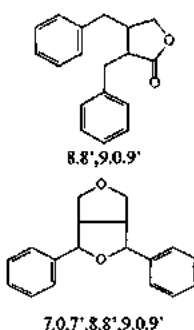
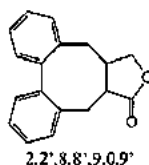
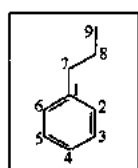


Figura 1. Exemplos de estruturas de lignanas, neolignanas, atlignanas, oligolignóides e heterolignóides

3. ESTRUTURAS BÁSICAS E NUMERAÇÃO

Mais de 500 lignóides estão relatados na literatura. Desse total, 90% pertence ao grupo das lignanas e neolignanas e pelo menos quatro dezenas de esqueletos carbônicos diferentes são conhecidos. A figura 2 mostra os diversos tipos estruturais mais representativos e sua designação de acordo com Freudenberg e Weinges (1961). Outros tipos estruturais poderão ser encontrados

Esqueletos de lignanas



Esqueletos de neolignanas

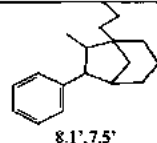
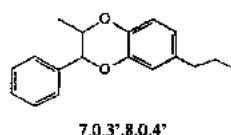
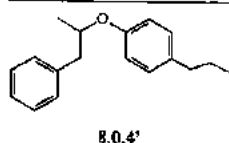
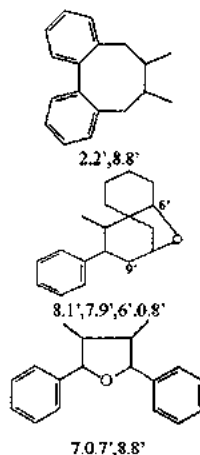
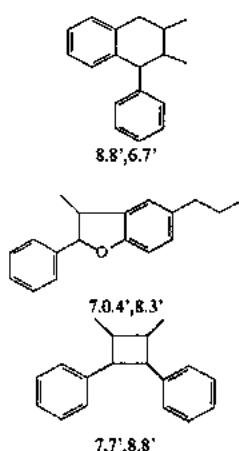
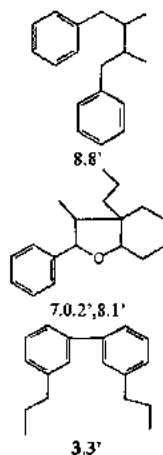


Figura 2. Esqueletos clássicos de lignanas e neolignanas

nos trabalhos de revisão de Gottlieb (1978) e Gottlieb e Yoshida (1989).

São assim denominados: diarilbutano (8.8') ou quando apresentam um grupo lactona diarilbutanolido (8.8',9.0.9'), ariltetralina (8.8',6.7' e 8.8',9.0.9',6.7'), dibenzociclooctano (2.2',8.8' e 2.2',8.8',9.0.9'), tetrahydrofurano (7.0.7',8.8') e furofurano (7.0.7',8.8',9.0.9' e 7.0.9',8.8',9.0.7'), benzo-furano (7.0.2',8.1' e 7.0.4',8.3'), futoenona (8.1',7.9',6'.0.8'), dihidrodieugenol (3.3'), diarilciclobutano (7.7',8.8'), ariloxiarilpropano (8.0.4'), benzodioxano (7.0.3',8.0.4') e biciclooctano (8.1',7.5').

4. BIOGÊNESE

Um esquema geral de biossíntese dos lignóides é mostrado abaixo (figura 3), envolvendo os metabólitos primários finais da via metabólica do chiquímato.

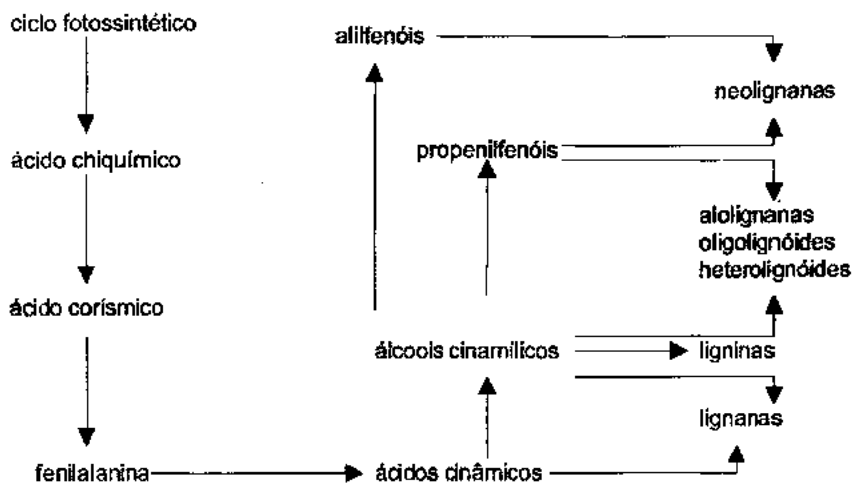


Figura 3. Derivação biossintética de vários grupos de lignóides

Segundo a hipótese formulada por Birch (1963), o caminho biossintético dos arilpropanóides, precursores primários dos lignóides, desenvolve-se a partir da fenilalanina ou da tirosina, pela via redutora, que envolve a formação de ácidos cinâmicos, aldeídos cinâmicos e álcoois cinâmicos. Se o álcool for convertido a pirofosfato, o éter resultante será altamente susceptível ao ataque nucleofílico, fato conhecido em muitas reduções biológicas. A ação enzimática de NADP conduziria aos alil e propenil fenóis (figura 4).

Portanto, quatro monômeros estão envolvidos no acoplamento oxidativo do processo biogenético dos lignóides: ácido cinâmico, álcool cinâmico, propenilfenóis e alifênóis. Essas unidades precursoras são distribuídas em dois grupos de acordo com a estrutura e ocorrência:

Grupo A - ácido cinâmico (a) e álcool cinâmico (a')

Grupo B - propenilfenóis (b) e alilfenóis (b')

A análise estrutural dos homolignóides, derivados do acoplamento oxidativo dos monômeros envolvidos no processo biogenético, revela a existência de produtos formados pelo acoplamento de (a+a, a+a', a'+a'), (b+b, b+b', b'+b') ou deles cruzados (a+b, a+b', a'+b, a'+b'), resultando em lignanas, neolignanas e alolignanas, respectivamente.

A biogênese dos lignóides, principalmente das lignanas e neolignanas, que formam a grande maioria das substâncias conhecidas, pode ser explicada pelo acoplamento oxidativo entre unidades monoméricas radiculares. Esses radicais podem apresentar várias estruturas canônicas de ressonância, mostradas na figura 4. Dependendo do acoplamento desses radicais nas diferentes posições possíveis, origina-se o lignóide de determinado tipo estrutural.

Assim, o acoplamento oxidativo entre esses radicais (p. ex. propenila, alila, cinamoila e cinamila) seguido da adição de um ou dois íons hidretos,

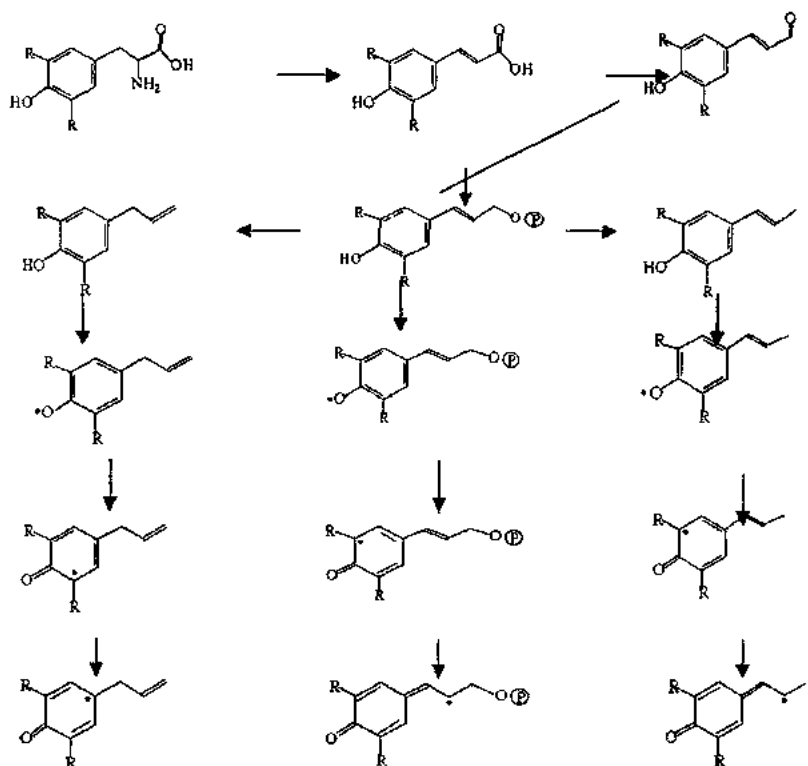
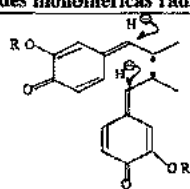
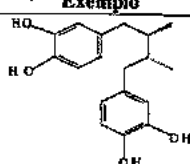
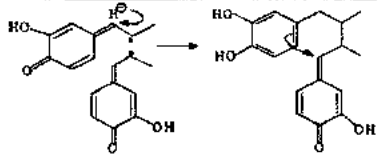
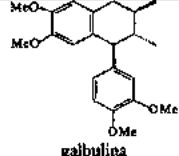
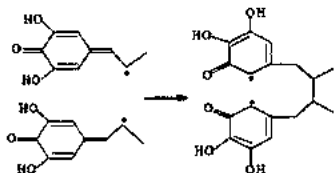
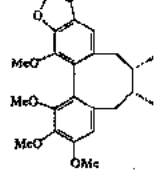
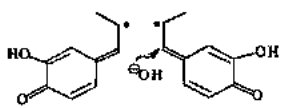
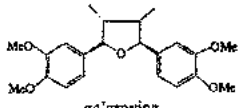
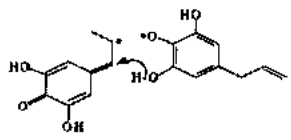
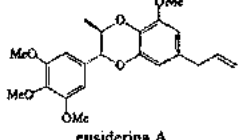
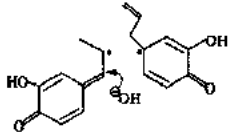
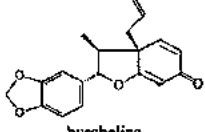
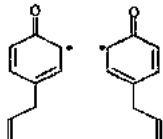
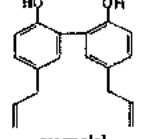


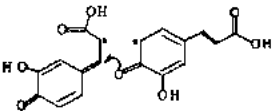
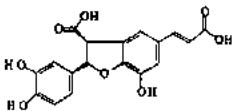
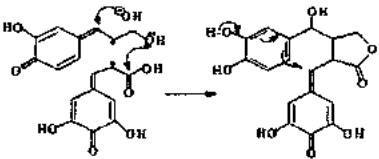
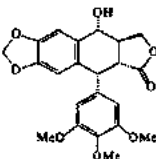
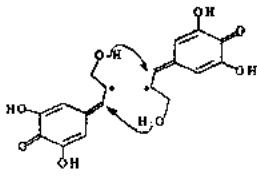
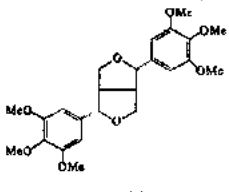
Figura 4. Proposição biossintética para os arilpropanóides e geração de radicais C₆-C₃.

TABELA 1
Neolignanas e lignanas com seus respectivos precursores biogênicos

Precusores	Unidades monoméricas radicalares	Exemplo
propenila + propenila		 ácido di-hidroguaiarético
propenila + propenila		 galbulina
propenila + propenila		 gomisin A
propenila + propenila		 galgravin
propenila + propenila		 eusiderin A
propenila + alila		 burchellina
alila + alila		 magnolol

(continua)

TABELA 1
Neolignanas e lignanas com seus respectivos precursores biogenéticos
(continuação)

Precusores	Unidades monoméricas radiculares	Exemplo
cinamoila + cinamoila		 hordatina
cinamila + cinamoila		 podofilotoxina
cinamila + cinamila		 iangambina

adição de íon hidreto mais hidroxila inter ou intramolecular e ciclização e aromatização, conduzem a vários tipos de neolignanas (ácido nordi-hidroguaiarético, galbulina, gomisina N, galgravina, eusiderina A, burchelina e magnolol) e lignanas (hordatina, podofilotoxina e iangambina) mostradas na tabela 1.

Aspectos configuracionais desempenham um papel de grande importância na química e bioquímica dos lignóides. Com algumas exceções, possuem dois, três, cinco e até mais centros assimétricos. Os grupos arila dos precursores são comumente substituídos por grupos hidroxila, metoxila e metileno-dioxi, por exemplo, guaiacila (3-OMe, 4-OH), veratrila (3,4-OMe), piperonila (3,4-O₂CH₂), metóxi-piperonila (3-OMe, 4,5-O₂CH₂), siringila (3,5-OMe, 4-OH) e tri-metóxi-fenila (3,4,5-OMe).

Para maiores detalhes sobre biossíntese e reatividade de lignanas e neolignanas, consultar os trabalhos de revisão de Gottlieb e Yoshida (1984) e Dewick (1989).

5. OCORRÊNCIA E DISTRIBUIÇÃO

Os lignóides são amplamente distribuídos no reino vegetal. Se de um lado as plantas lenhosas são mais ricas em lignanas, nos arbustos predominam as neolignanas. Por outro lado, se considerados os produtos resultantes do acoplamento oxidativo dos monômeros do grupo A (biossíntese apoiada nos álcoois cinâmílicos, que dão origem às lignanas), verifica-se que esses são de vasta distribuição no reino vegetal e foram detectados em 75 famílias. Estão bem representados em angiospermas e em poucas gimnospermas. Já os metabólitos derivados do grupo B (propenilfenóis e alilfenóis, que dão origem as neolignanas), têm se concentrado em poucos taxa morfológicamente aparentados como Magnoliales, Laurales e Piperales, embora não signifique, no entanto, que sejam restritas a esses taxa. No Brasil, o grupo de pesquisa liderado pelo Prof. Gottlieb contribuiu significativamente para o conhecimento da química das neolignanas. A família Lauraceae foi a mais estudada, principalmente os gêneros *Aniba*, *Licaria*, *Nectandra* e *Ocotea*, com quase duas centenas de substâncias inéditas registradas na literatura. Numa avaliação aproximada, já foram isolados por volta de 700 lignóides, dos quais 390 lignanas, 270 neolignanas e 50 outras, abrangendo alolignanas, norlignanas, oligolignóides e heterolignóides.

Para maiores informações sobre a ocorrência e distribuição de lignóides no reino vegetal pode-se consultar as seguintes referências: até 1976 o trabalho de revisão editado por Rao (1978); entre 1977 e 1983, o assunto foi revisado por Whiting (1985); de 1984 a 1987 a revisão de Massanet et al. (1989); Whiting (1990) também revisou a literatura entre 1986 e 1988, e Ward (1993, 1995, 1997 e 1999) revisou a literatura entre janeiro de 1989 e dezembro de 1997.

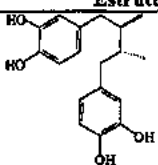
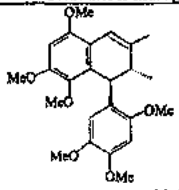
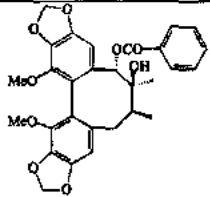
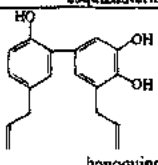
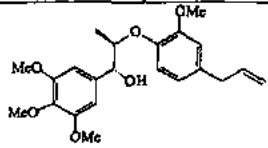
6. ATIVIDADES BIOLÓGICAS

O elevado número de lignanas e neolignanas distribuídas no reino vegetal leva à suposição de que as propriedades biológicas dessas substâncias sejam essenciais ao desenvolvimento do próprio vegetal e ao controle deste sobre a vida circunjacente. Por isso, não é de se admirar que também essas substâncias possam ser aproveitadas diretamente pelo homem ou servindo de modelo para a síntese de fármacos. Nesse sentido, existem dezenas de relatos na literatura sobre atividades biológicas comprovadas desse grupo e um pequeno resumo é aqui apresentado.

Com base em fitoquímica comparada, Gottlieb (1982) mostrou que os lignóides são indicadores do processo evolutivo em angiospermas e desempenham um papel na adaptação ecológica. Há evidências de que esse grupo de substâncias esteja envolvido em interações de plantas com fungos, insetos ou com outras plantas. Sabe-se que as neolignanas acumulam

em madeiras como resposta a ferimentos mecânicos ou ao ataque de microrganismos e que exibem propriedades de defesa contra insetos, como o efeito antialimentar induzido pela piperenona, isolada de *Piper futokadsura* Siebold (Piperaceae). Tem sido demonstrado, também, que a lignificação faz parte da reação hipersensitiva de plantas a patógenos, como exemplo a formação de lignina em folhas de *Coffea arabica* L., em resposta à inoculação do fungo *Hemileia vastatrix* (ferrugem-do-café).

TABELA 2
Atividades biológicas detectadas para algumas neolignanas

Espécie	Estrutura	Atividade detectada
<i>Larrea cuneifolia</i> Cav. (Zygophyllaceae)	 ácido nor-di-hidroguaiarético	antitumoral antifúngica antioxidante
<i>Magnolia salicifolia</i> Maxim. (Magnoliaceae)	 magnoshinina	antiinflamatória
<i>Schizandra chinensis</i> C. Koch (Schizandraceae)	 esquizanterina D	anti-hepatotóxica
<i>Magnolia officinalis</i> Rehder et E. H. Wilson (Magnoliaceae)	 honoquinol	relaxante muscular
<i>Virola surinamensis</i> (Rol. ex Rottb.) Warb. (Myristicaceae)	 surinamensina	cercaricida

As investigações concernentes às atividades farmacológicas de neolignanas se concentraram de início no ácido nor-di-hidroguaiarético (NDGA), utilizado amplamente como antioxidante de produtos alimentícios. Como atividades farmacológicas em investigação, destacam-se as propriedades antiinflamatória da magnoshinina, antifúngica da otobaina, anti-hepatotóxica e regeneradora do parênquima hepático de várias esquizanterinas. A surinamensina, obtida de *Virola surinamensis* (Rol. ex Rottb.) Warb., é uma das poucas neolignanas isoladas de plantas brasileiras avaliada farmacologicamente, sendo comprovada a inibição da penetração de cercárias de *Schistosoma mansoni* no hospedeiro (Barata et al., 1978). A tabela 2 mostra algumas neolignanas de interesse biológico.

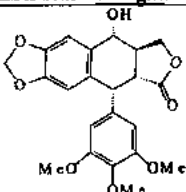
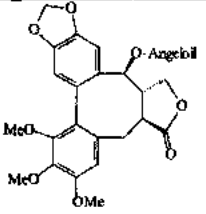
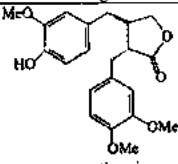
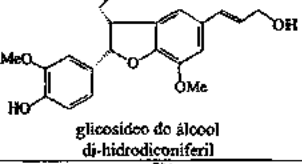
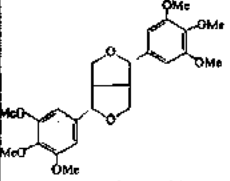
Como fonte de medicamentos destaca-se a lignana podofilotoxina, extraída de espécies de *Podophyllum*, como descrito adiante. As atividades farmacológicas detectadas e as potenciais aplicações na terapêutica são apresentadas nas tabelas 2 e 3 para neolignanas e lignanas, respectivamente. Para maiores informações sobre propriedades farmacológicas dos lignóides, pode-se consultar as seguintes referências: MacRae e Towers (1984) e Ayres e Locke (1990).

7. PROPRIEDADES, OBTENÇÃO E ANÁLISE

Pode-se dizer que não existem reações químicas gerais, de coloração ou de precipitação, para detectar lignóides em extratos vegetais. Quanto à polaridade dos mesmos, pode-se generalizar e dizer que seus precursores biogênicos são bons indicadores do comportamento dessas substâncias junto aos solventes orgânicos usuais. Assim, as neolignanas, que são dímeros fenilpropanoídicos, são solúveis em solventes apolares, tais como éter de petróleo e análogos, principalmente se a porção do anel aromático estiver metoxilada, como acontece na maioria das vezes. As neolignanas geralmente se apresentam como óleos de alta viscosidade. As lignanas são sólidos incolores cujo ponto de fusão varia de 60 a 300°C e, por apresentarem o carbono gama oxigenado (carboxila ou hidroxila livre), são de polaridade intermediária. Já as lignanas glicosiladas, os oligolignóides e os heterolignóides são extraídos efetivamente com álcoois como metanol, etanol e butanol. A existência de hidroxila fenólica na molécula de algumas lignanas confere-lhes solubilidade em soluções aquosas diluídas dos hidróxidos alcalinos. Quando se utilizam essas soluções muito concentradas, os derivados butanolídeo dissolvem-se no reagente, mas, em consequência da abertura do anel lactônico e formação de sais alcalinos, pelos seus carboxilatos, tornam-se solúveis na água.

As raízes e rizomas de *Podophyllum hexandrum* Royle produzem quantidades comerciais de podofilotoxina com rendimento que varia de 1,5-4,0%

TABELA 3
Atividades biológicas detectadas para algumas lignanas

Espécie	Estrutura da lignana	Atividade detectada
<i>Podophyllum hexandrum</i> Royle (Berberidaceae)	 podofilotoxina	antineoplásica
<i>Steganotaenia araliacea</i> Hochst. (Apiaceae)	 esteganacina	antileucêmica
<i>Ipomoea cairica</i> (L.) Sweet (Convolvulaceae)	 aretigenina	anti-HIV
<i>Plagiorhegma dubium</i> Maxim. (Berberidaceae)	 glicosídeo do álcool di-hidroconiferil	antiinflamatória
<i>Ocotea duckei</i> Sleum. (Lauraceae)	 iangambina	anticonvulsivante antiespasmódica anti PAF antialérgica

do peso seco. Isso dependerá da idade da planta, mas é bem mais econômico que qualquer processo existente de síntese para esse produto, até o momento. De *Piper cubeba* L. f. se extrai desde a metade do século XX, a lignana cubebina, utilizada como antisséptico urinário. Resinas de árvores geralmente são boas fontes de lignanas. Na tabela 4 são apresentadas algumas resinas obtidas comercialmente.

TABELA 4
Resinas como fontes comerciais de lignanas

Lignóides	Fonte	Rendimento (%)
matairesinol	<i>Podocarpus spicatus</i> R. Br.	50
olivil	<i>Olea europaea</i> L.	45
pinoresinol	<i>Pinus sp.</i> , <i>Picea sp.</i>	35
ácido guaiarético	<i>Guaiacum officinale</i> L.	12
eudesmina	<i>Eucalyptus hemiphloia</i> F. Muell.	10
gmelinol	<i>Gmelina leichardtii</i> F. Muell. ex Benth.	2,3

Atenção crescente tem sido dispensada na padronização de métodos de análises de lignanas e neolignanas, não só para extratos de plantas como também de fluidos biológicos. Além dos métodos tradicionais de separação envolvendo cromatografia em coluna gel de sílica são empregados também GC-MS, LC-MS e CLAE. Para maiores informações sobre obtenção, purificação e caracterização de lignóides, pode-se consultar as revisões de Ayres e Loike (1990) e Ward (1997).

8. DROGAS VEGETAIS CLÁSSICAS

PODOFILO

Nome científico: *Podophyllum peltatum* L.; *Podophyllum hexandrum* Royle

Família botânica: Berberidaceae

Parte usada: rizomas e raízes dessecadas

Monografias Farmacopéicas: Ph. Bras I; U.S.P. 23; B.P. 1993; Ph. Fr. IX; OAB; F.Arg., Ph. Belg., F.Esp., F. Port.

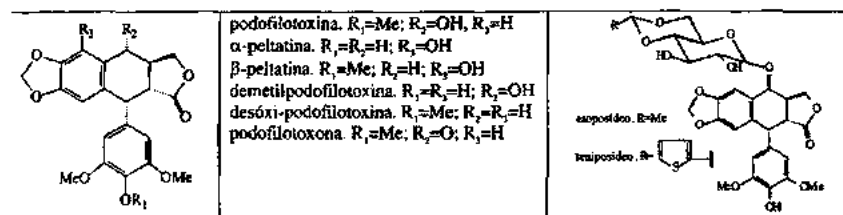
Podophyllum peltatum L. é uma erva perene, nativa das regiões orientais dos Estados Unidos e Canadá, empregada antigamente pelos índios e pelos primeiros colonizadores como cáustico para certos papilomas, como vermífugo e emético. Dessa planta prepara-se a “resina de podofilo”, de que se extraem diversas lignanas do tipo ariltetralinas, com propriedades antineoplásicas, sendo a mais conhecida a podofilotoxina.

Podophyllum hexandrum Royle (= *P. emodi* Wall.) é uma espécie nativa da Índia que produz 12% de resina e contém quase o dobro de podofilotoxina da espécie norte-americana.

Constituintes químicos:

Para cinco espécies de *Podophyllum* a literatura apresenta dados fitoquímicos (Atta-Ur-Rahman 1995; Bastos et al. 1995; Broomhead e Dewick 1990; Chatterjee e Chakravarti 1952). As substâncias presentes são todas lignanas

do tipo ariltetralinas, na forma livre ou como glicosídeos: *Podophyllum hexandrum* Royle (24 lignanas), *P. peltatum* L. (17 lignanas), *P. versipelle* Hance (13 lignanas) e *P. sikkimensis* R. Chatterjee et Mukerjee (apenas uma, a sikkimotoxina). Com exceção da última espécie, nas outras são comuns as seguintes lignanas: podofilotoxina, α -peltatina, β -peltatina, demetilpodofilotoxina, desóxi-podofilotoxina e podofilotoxona.



Emprego farmacêutico:

A utilização terapêutica sistêmica de preparações com a podofilotoxina não é aceitável, devido a sua elevada toxicidade, que inclui distúrbios gastrintestinais, renais, hepáticos e no sistema nervoso central. Por outro lado, em tratamentos tópicos a resina de podofilo é utilizada como agente antimitótico, principalmente em condilomas externos pequenos, ou como queratolítico. A aplicação tópica não deve abranger os tecidos sãos, devido à elevada ação irritante sobre pele, olhos e mucosas.

Apesar da elevada toxicidade, a resina de podofilo continua sendo um dos produtos de origem vegetal com fins medicamentosos mais importante dos Estados Unidos, devido à utilização como matéria-prima para a obtenção de derivados semi-sintéticos; sua produção anual é de várias centenas de toneladas, o que supre a demanda local e externa. Estudos de modificação molecular feitos com a podofilotoxina, que é potente inibidor da divisão celular, levaram ao desenvolvimento do etoposídeo e teniposídeo, derivados semi-sintéticos, desenvolvidos pela Mead-Johnson, que atuam através de outro mecanismo de ação, especificamente através da inibição de topoisomerases II.

GUAIACO

Nome científico: *Guaiacum officinale* L. e *Guaiacum sanctum* L.

Família botânica: Zygophyllaceae

Parte usada: Resina obtida do lenho

Monografias Farmacopéicas: Ph. Bras. I; B.P. 1993; B.H.P. 1990; J.P.;

Pharm. Yugos.; Ph. Helv.

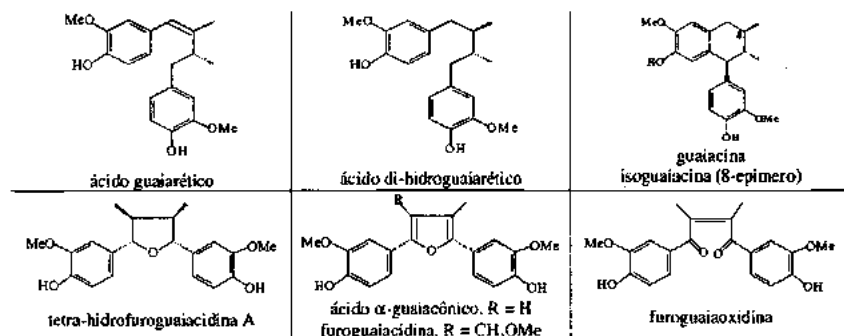
A resina de guaiaco é obtida do lenho de *Guaiacum officinale* L. e *Guaiacum sanctum* L., pequenas árvores perenes que se encontram nas regiões costeiras áridas da América tropical. *Guaiacum officinale* ocorre espontaneamente nas costas da Venezuela e Colômbia, enquanto *Guaiacum sanctum* L. se de-

senolve bem em Cuba, Haiti e Bahamas. Da resina de guaiaco se prepara um reativo tradicional para a pesquisa de oxidases e peroxidases. Um dos constituintes mais importantes desta resina é o ácido α -guaiaconico, que é uma neolignana do tipo furano. O guaiaco é também conhecido como pau-santo (*lignum sanctum*) de tradicional utilização medicinal.

Constituintes químicos:

Resinas (15 a 20%): ácido guaiarético, ácido di-hidroguaiarético, guaiaquina, isoguaiaquina, ácido α -guaiaconico (= furoguaiaquina), furoguaiaquina, tetra-hidrofuroguaiaquina A, furoguaiaoxidina. Foi descrita, ainda, a presença de β -sitosterol, ácido oleanólico e saponinas (Newall et al., 1996).

Tradicionalmente, a resina de guaiaco tem sido utilizada no tratamento do reumatismo subagudo, profilaxia da gota e artrite reumatóide, mas não foram encontrados na literatura trabalhos científicos confirmando essas propriedades. A atividade antimicrobiana está associada aos diversos lignóides presentes. É considerada pouco tóxica por ingestão, apresentando DL_{50} em ratos superior a 5 g/kg de peso (Newall et al., 1996), mas há referências de que a resina possa causar dermatite por contato (Mitchell e Rock, 1979).



A resina de guaiaco é usada sob a forma de tintura como reagente das oxidases, peroxidases e outras substâncias oxidantes, que determinam o aparecimento de cor azul devido à oxidação do ácido α -guaiaconico em azul de guaiaco.

CARDO-SANTO

Nome científico: *Silybum marianum* (L.) Gaertn.

Família botânica: Asteraceae

Parte usada: frutos maduros

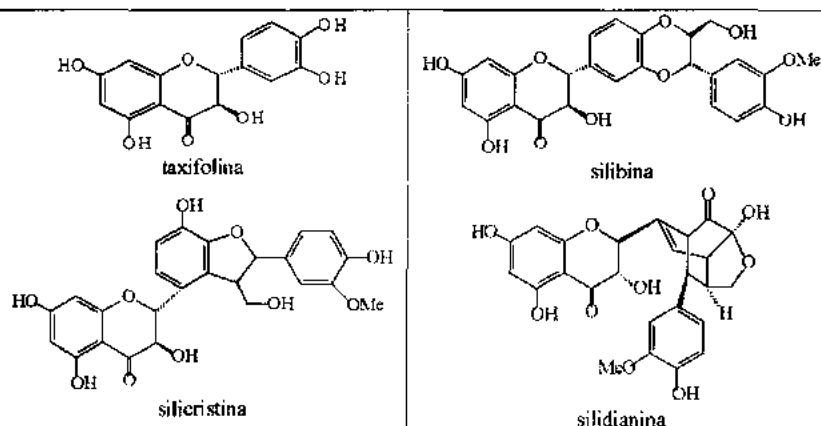
Monografias Farmacopéicas: DAB 8; ÖAB, Ph. Helv.

O cardo-santo, também conhecido popularmente por cardo-de-leite ou cardo-maria é uma erva bianual, que pode alcançar até 1,5 m de altura, com folhas alternas, sinuado-denteadas, espinescentes, maculadas de branco, grandes;

flores róseas dispostas em capítulos terminais guarnecidos de brácteas também espinescentes. É oriunda da Europa e ambientada no Brasil, sendo cultivada como planta ornamental no sul do país e utilizada também em saladas.

Constituintes químicos:

Os frutos acumulam grande quantidade de lipídios (20 a 30%), além de proteínas, carboidratos e alguns flavonóides. Como componentes de ação anti-hepatotóxica considera-se a mistura de substâncias denominada silimarina, presente entre 1,5 a 3% do peso da droga. Verificou-se que esta é constituída por várias flavonolignanas que compreendem a silibina (também conhecida como silibinina), constituinte majoritário, acompanhada de outros isômeros. A silibina é um heterolignóide de núcleo benzodioxano formado pela adição do álcool coniferílico à taxifolina. Os outros constituintes da silimarina são a silidianina, um oxatriciclodeceno resultante da cicloadição do álcool coniferílico, a taxifolina e a silicristina, com estrutura di-hidrobenzofurânica. Em outra variedade de *Silybum*, a de flor branca, foram encontrados as mesmas substâncias acima, acompanhadas dos derivados 3-desóxi da silibina (silandrina) e da silidianina (silimonina).



Emprego farmacêutico:

Doenças hepáticas agudas e crônicas são consideradas de difícil tratamento, sendo poucos os medicamentos de benefícios reconhecidos, como glicocorticóides e imunossupressores em algumas formas de hepatites virais. Por outro lado, o cardo-santo é a droga vegetal de maior tradição de uso em distúrbios hepáticos e, por isso, vem sendo investigada com muito interesse. Na Europa e também no Brasil são comercializados produtos contendo extratos padronizados com base na mistura de flavolignanas silimarina, com indicação em disfunções hepáticas, inclusive cirrose hepática (Blumenthal, 1998). Para a silimarina, foi demonstrada

ação benéfica em diversos modelos animais de lesão hepática, tendo sido demonstrado efeito protetor quando administrada anteriormente a substâncias hepatotóxicas como tetracloreto de carbono, galactosamina, entre outras, destacando-se a ação protetora frente às toxinas do cogumelo *Amanita phalloides*, razão pela qual tem sido preconizada como antídoto nessas intoxicações. No entanto, o benefício em lesões hepáticas já estabelecidas em humanos tem sido questionado, tendo em vista que, na maior parte dos estudos em animais, a administração do produto “hepatoprotetor” é realizada anteriormente ou concomitantemente ao agente hepatotóxico, freqüentemente utilizando ainda como via de administração a intravenosa ou intraperitonial, o que inviabiliza a extrapolação de resultados para a ação em humanos de produtos utilizados por via oral. Especificamente em relação a produtos padronizados contendo silimarina, já existem ensaios clínicos em pacientes com lesões hepáticas decorrentes do uso abusivo de álcool, a causa mais freqüente de doenças hepáticas crônicas, indicando aumento da taxa de sobrevivência e boa tolerância. Para uma discussão desses estudos ver Morazzoni e Bombardelli, 1995 e Schulz et al., 1998.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ATTA-UR-RAHMAN; ASHRAF, M.; CHOUDHARY, M.I.; HABIB-UR-REHMAN; KAZMI, M.H. Antifungal aryltetralin lignans from leaves of *Podophyllum hexandrum*. *Phytochemistry*, v. 40, p. 427-431, 1995.
- ABREU, H.S. *Biossíntese de lignificação*. Itaguaí: Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 1994. 63p.
- ADLER, E. Lignin chemistry- past, present and future. *Wood Sci. Technol.*, v. 11, p. 169-216, 1977.
- AYRES, D.C.; LOIKE, J.D. *Lignans. Chemical, biological and clinical properties*. Cambridge: University of Cambridge, 1990. 402p.
- BARATA, L.E.S.; BAKER, P.M.; GOTTLIEB, O.R.; RÚVEDA, E.A. Neolignans from *Viola surinamensis*. *Phytochemistry*, v. 17, p. 783-786, 1978.
- BASTOS, J.K.; KOPCYCKI, W.J.; BURANDT-JUNIOR, C.L.; NANAYAKKARA, N.P.D.; MC-CHESNEY, J.D. Quantitative determination of podophyllotoxin and related compounds in *Podophyllum* species by reverse phase high performance liquid. *Phytochem. Anal.*, v. 6, p. 101-105, 1995.
- BIRCH, A.J. Biosynthetic pathways. In: SWAIN, T. *Chemical plant taxonomy*. London: Academic, 1963. p. 143.
- BRITISH PHARMACOPOEIA. International Edition, London, 1993.
- BRITISH HERBAL PHARMACOPOEIA. Bournemouth: British Herbal Medicine Association, 1990.
- BROOMHEAD, A.J.; DEWICK, P.M. Tumor-inhibitory aryltetralin lignans in *Podophyllum versipelle*, *Diphylleia cymosa* and *Diphylleia gravey*. *Phytochemistry*, v. 29, p. 3831-3837, 1990.
- CHATTERJEE, R.; CHAKRAVARTI, S.C. Resin sikkimensis. I. Sikkimotoxin a lactone from *Podophyllum sikkimensis*. *J. Amer. Pharm. Ass. Sci. Ed.*, v. 41, p. 415-416, 1952.

- DEUTSCHES ARZNEIBUCH. 8. Aufl. Stuttgart, Frankfurt: Deutscher Apotheker, 1978.
- DEWICK, P.M. Biosynthesis of lignans. In: ATTA-UR-RAHMAN (ed.). *Studies in natural products chemistry. Structure elucidation (Part B)*. Amsterdam: Elsevier, 1989. v. 5, p. 459-503.
- FREUDENBERG, K.; NEISH, A.C. *Constitution and biosynthesis of lignin*. Berlin: Springer, 1968. 123p.
- FREUDENBERG, K.; WEINGES, K. Systematik und Nomenklatur der Lignane. *Tetrahedron*, v. 15, p. 115-128, 1961.
- GOTTLIEB, O.R. Neolignans. *Fortschr. Chem. Org. Naturst.*, v. 35, p. 1-72, 1978.
- _____. *Micromolecular evolution, systematics and ecology, an essay into a novel botanical discipline*. Heidelberg: Springer, 1982. 170p.
- GOTTLIEB, O.R.; YOSHIDA, M. Lignóides, com atenção especial à química das neolignanas. *Química Nova*, v. 7, p. 250-273, 1984.
- _____. Lignans. In: ROWE, J.W. (ed.). *Natural products of woody plants I*. Berlin: Springer, 1989. p. 439-511.
- HAWORTH, R.D. The chemistry of the lignan group of natural products. *J. Chem. Soc.*, p. 448-456, 1942.
- MACRAE, W.D.; TOWERS, G.H.N. Biological activities of lignans. *Phytochemistry*, v. 23, n. 6, p. 1207-1220, 1984.
- MASSANET, G.M.; PANDO, E.; RODRIGUEZ-LUIS, F.; ZUBIA, E. Lignans: a review. *Fitoterapia*, v. 60, n. 1, p. 3-35, 1989.
- MITCHELL, J.; ROOK, A. *Botanical dermatology - plant and plant products injurious to the skin*. Vancouver: Greengrass, 1979.
- MORAZZONI, P.; BOMBARDELLI, E. *Silybum marianum (Carduus marianus)*. *Fitoterapia*, v. 66, n. 1, p. 3-42, 1995.
- NEWALL, C.A.; ANDERSON, L.A.; PHILLIPSON, J.D. *Herbal medicines, a guide for health-care professionals*. London: Pharmaceutical, 1996. p. 156.
- PHARMACOPEIA DOS ESTADOS UNIDOS DO BRASIL. São Paulo: Nacional, 1929.
- PRATT, W.B.; RUDDON, R.W.; ENSMINGER, W.D.; MAYBAUM, J. *The anticancer drugs*. 2.ed. New York: Oxford University, 1994. p. 183-198.
- RAO, C.B.S. *Chemistry of lignans*. Andhra: Andhra University, 1978. 377p.
- SARKANEN, K.V.; LUDWIG, C.H. *Lignins, occurrence, formation, structure and reaction*. New York: Wiley-Interscience, 1971. p. 95-163.
- SCHULZ, V.; HÄNSEL, R.; TYLER, V.E. *Rational phytotherapy*. Berlin: Springer, 1998.
- THE UNITED STATES PHARMACOPEIA. The National Formulary. Rockville: The United States Pharmacopeial Convention, 1995.
- WARD, R.S. Lignans, neolignans, and related compounds. *Nat. Prod. Report.*, v. 10, n. 1, p. 1-28, 1993.
- _____. Lignans, neolignans, and related compounds. *Nat. Prod. Report.*, v. 12, n. 2, p. 183-205, 1995.
- _____. Lignans, neolignans, and related compounds. *Nat. Prod. Report.*, v. 14, n. 1, p. 43-74, 1997.
- _____. Lignans, neolignans and related compounds. *Nat. Prod. Rep.*, v. 16, n. 1, p. 75-96, 1999.
- WHITING, D.A. Lignans, neolignans, and related compounds. *Nat. Prod. Report.*, v. 2, n. 3, p. 191-211, 1985.

- . Lignans, neolignans, and related compounds. *Nat. Prod. Report.*, v. 7, n. 4, p. 349-364, 1990.

10. SUGESTÕES PARA LEITURA

- BRUNETON, J. *Pharmacognosie phytochimie plantes médicinales*. 2. ed. Paris: Technique et Documentation - Lavoisier, 1993.
- LEWIS, N.G.; DAVID, L.B. Evolution of lignan and neolignan biochemical pathways. In: NES, W.D. (ed.). *Isopentenoids and other natural products: evolution and function*. Washington: American Chemical Society, 1994.
- EVANS, W.C. *Trease and evans' pharmacognosy*. 14.ed. Philadelphia: WB Saunders, 1996.
- ROBBERS, J.E.; SPEEDIE, M.K.; TYLER, V.E. *Pharmacognosy and pharmacobiotechnology*. Baltimore: Williams & Wikins, 1996.

FLAVONÓIDES

AUTOR

José Angelo Silveira Zuanazzi
Jarbas Alves Montanha

SUMÁRIO DO CAPÍTULO

1. Generalidades
2. Flavonas, flavonóis e seus O-heterosídeos
3. Flavonóides C-heterosídeos
4. Antocianos
5. Chalconas
6. Auronas
7. Di-hidroflavonóides
8. Flavanós, leucoantocianidinas e proantocianidinas
9. Isoflavonóides
10. Neoflavonóides
11. Biflavonóides
12. Propriedades físico-químicas dos flavonóides
13. Extração de flavonóides
14. Caracterização de flavonóides
15. Isolamento e purificação
16. Doseamento de flavonóides
17. Identificação de flavonóides
18. Propriedades farmacológicas dos flavonóides
19. Drogas vegetais clássicas
20. Referências bibliográficas
21. Sugestões para leitura

1. GENERALIDADES

Os flavonóides, biossintetizados a partir da via dos fenilpropanóides, constituem uma importante classe de polifenóis, presentes em relativa abundância entre os metabólitos secundários de vegetais. Uma "substância fenólica ou polifenólica" é aquela que possui um ou mais núcleos aromáticos contendo substituintes hidroxilados e/ou seus derivados funcionais (ésteres, éteres, glicosídeos e outros). Entretanto, uma definição levando em conta somente a estrutura química não é apropriada, uma vez que existem compostos contendo hidroxilas fenólicas, que fazem parte de outras classes de metabólitos. Dessa forma, é mais conveniente empregar-se uma definição que leva em conta também a origem biogenética.

Uma representação esquemática da biossíntese de flavonóides está apresentada na figura 1. Os nomes triviais dos flavonóides empregados possuem, na grande maioria dos casos, relação com a planta na qual foram identificados pela primeira vez. Por exemplo: tricina foi isolada de *Triticum* sp., robinetina de *Robinia* sp., vitexina de *Vitex* sp. e quercetina de *Quercus* sp. A grande diversidade de nomes triviais destas substâncias pode causar uma certa confusão para os indivíduos ainda não familiarizados com este tipo de nomenclatura.

Os flavonóides representam um dos grupos fenólicos mais importantes e diversificados entre os produtos de origem natural. Essa classe de compostos é amplamente distribuída no reino vegetal. Quase ausen-

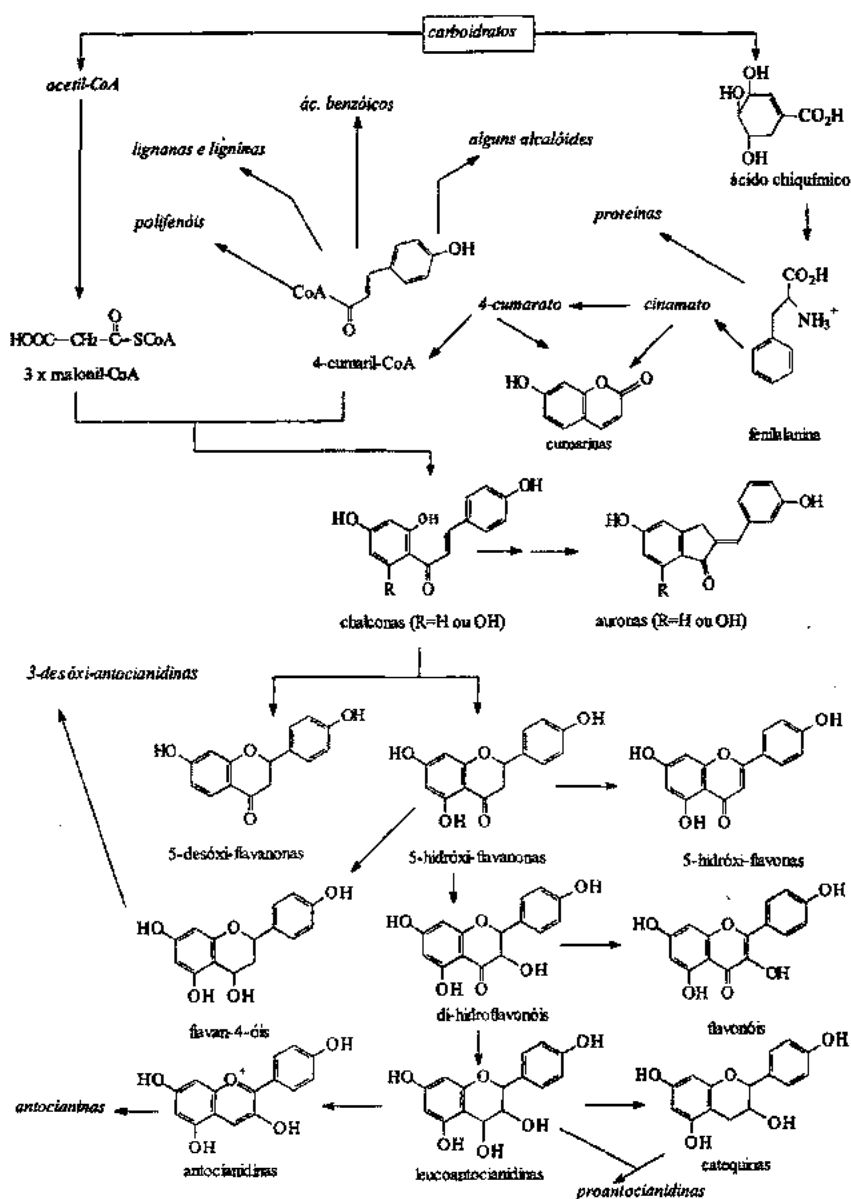


Figura 1. Representação esquemática simplificada da biossíntese de flavonóides

te em algas, alguns representantes foram identificados em briófitas, existindo somente um relato de ocorrência em fungos. Em pteridófitas também foram encontrados, mas sua variabilidade estrutural é pequena. Todavia, estão presentes em abundância em angiospermas, apresentando nesse grupo enorme diversidade estrutural.

Podem-se encontrar flavonóides em diversas formas estruturais. Entretanto, a maioria dos representantes dessa classe possui 15 átomos de carbono em seu núcleo fundamental, constituído de duas fenilas ligadas por uma cadeia de três carbonos entre elas. Nos compostos tricíclicos, as unidades são chamadas núcleos **A**, **B** e **C** e os átomos de carbono recebem a numeração com números ordinários para os núcleos **A** e **C** e os mesmos números seguidos de uma linha (') para o núcleo **B** (figura 2). Alguns autores substituem a numeração 9 e 10 nos flavonóides por 8a e 4a, respectivamente. As chalconas, excepcionalmente, possuem uma numeração diferente, como apresentado no item correspondente a seguir.

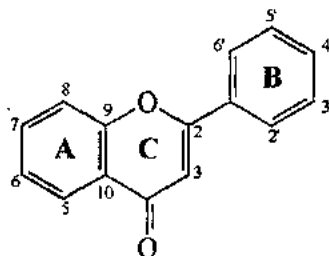
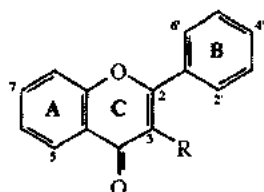


Figura 2. Núcleo fundamental dos flavonóides e sua numeração

São conhecidos, até o presente, mais de 4.200 flavonóides diferentes, sendo que o número de novas estruturas identificadas praticamente dobrou nos últimos vinte anos. Os flavonóides de origem natural apresentam-se, frequentemente, oxigenados e um grande número ocorre conjugado com açúcares. Esta forma, chamada conjugada, também é conhecida como heterosídeo. São denominados de *O*-heterosídeos quando a ligação se dá por intermédio de uma hidroxila e de *C*-heterosídeos quando a ligação se dá com um átomo de carbono. Quando o metabólito (flavonóides, antraquinonas, terpenos, etc.) encontra-se sem o açúcar, é chamado de aglicona ou genina, sendo frequentemente denominado de forma livre. Na tabela 1 estão apresentadas as principais classes de flavonóides e um resumo de suas propriedades biológicas mais importantes.

TABELA I
Classes de flavonóides e algumas características conhecidas



Classes	Número aproximado de estruturas conhecidas	Características
Flavonas, flavonóis e seus <i>O</i> -heterosídeos	1660	co-pigmentação em flores; protetores contra raios UV nas folhas
<i>C</i> -heterosídeos	303	
Antocianos	256	pigmentação do vermelho até o azul
Chalconas	197	pigmentação amarela
Auronas	29	pigmentação amarela
Di-hidro-flavonóis	110	estão presentes frequentemente em tecidos de madeiras
Flavanonas	319	podem apresentar sabor amargo
Di-hidro-chalconas	71	podem apresentar sabor amargo
Flavanas, leucoantocianidinas e proantocianidinas	309	substâncias adstringentes com propriedades tanantes
Isoflavonóides	630	propriedades estrogênicas e/ou antifúngicas
Neoflavonóides	70	
Biflavonóides	134	propriedades antifúngicas
Outras estruturas	100	

Diversas funções são atribuídas aos flavonóides nas plantas. Dentre elas podem-se citar: (a) proteção dos vegetais contra a incidência de raios ultravioleta e visível, além de proteção contra insetos, fungos, vírus e bactérias; (b) atração de animais com finalidade de polinização; (c) antioxidantes; (d) controle da ação de hormônios vegetais; (e) agentes alelopáticos; e (f) inibidores de enzimas (Harborne, 1989; Harborne e Williams, 2000).

Flavonóides podem ser utilizados como marcadores taxonômicos. Isto é devido, sobretudo, a: (a) sua abundância relativa em quase todo o reino vegetal; (b) sua especificidade em algumas espécies; (c) sua relativa facilidade de identificação; (d) sua relativa estabilidade e (e) seu acúmulo com menor influência do meio ambiente. Como extensão dessas aplicações, flavonóides podem ser utilizados na determinação do parentesco de híbridos e em determinação de novos cultivares (Harborne, 1989; Harborne e Williams, 2000).

Mais recentemente, o estudo de flavonóides tem sido um capítulo novo nas interações entre plantas e microorganismos, sobretudo entre leguminosas e rizóbios.

Os flavonóides encontrados nas folhas podem ser diferentes daqueles presentes nas flores, nos caules ou ramos, raízes ou frutos. O mesmo com-

posto ainda pode ocorrer em diferentes concentrações, dependendo do órgão vegetal em que se encontra.

O interesse econômico pelos flavonóides é decorrente de suas diferentes propriedades, como, por exemplo, o fato de alguns apresentarem cor e poderem ser usados como pigmentos, sua importância no processo de tanagem do couro, na fermentação do chá-da-índia, na manufatura do cacau e e por conferirem cor e valor nutricional para alguns alimentos. Além disso, esses compostos possuem também importância farmacológica, resultado de algumas propriedades atribuídas a alguns representantes da classe, como por exemplo: antitumoral, antiinflamatória, antioxidante, antiviral, entre outras.

Devido ao grande número de flavonóides existentes, serão apresentados a seguir alguns representantes, agrupados em classes de acordo com suas características químicas e biossintéticas.

2. FLAVONAS, FLAVONÓIS E SEUS O-HETEROSÍDEOS

Esses compostos fazem parte de um grande grupo de flavonóides de origens biossintéticas muito próximas. Como os flavonóis são flavonas substituídas na posição C-3 por uma hidroxila, essas duas classes são em geral classificadas juntas. Isto é justificado uma vez que suas análises, síntese e reações químicas possuem uma base teórica comum.

Suas cores variam do branco ao amarelo, sendo identificados em quase todo o reino vegetal. As flavonas e flavonóis naturais são frequentemente oxigenados, substituídos com hidroxilas e/ou metoxilas. Outros substituintes encontrados com bastante frequência são: acila, C-metila, metileno, dioxila, isopreno, pirano, furano e seus derivados clorados. A maioria das flavonas e flavonóis identificados em plantas estão sob forma conjugada, i.e., com um ou mais açúcares ligados aos grupos hidroxilas por uma ligação hemiacetal facilmente destruída por hidrólise ácida. Além disso, existem formas desses flavonóides possuindo um ou mais sulfatos ligados à hidroxila e/ou à parte osídica da molécula. Alguns flavonóides têm sido identificados com ácidos ligados aos açúcares da molécula. Os mais comuns são os ácidos acético, gálico, *p*-cumárico e ferúlico, mas também foram relatados os ácidos: malônico, 2-hidróxi-propionico, succínico, butírico, 2-metilbutírico, tíglico, 3-hidróxi-metilglutárico, quínico, benzóico, *p*-hidróxi-benzóico, caféico, isoferúlico e sináptico.

As flavonas são derivadas da 2-fenilcromona e os flavonóis da 3-hidróxi-2-fenilcromona (tabela 2). As flavonas possuindo um grupamento metoxila ou isoprenila ligados ao carbono 3 são chamadas de 3-metóxi-flavonas ou 3-prenilflavonas, respectivamente. A numeração do núcleo fundamental está apresentada na tabela 2. Nos heterosídeos, os carbonos dos açúcares são numerados por números ordinários seguidos de uma linha ('), segundo a distância deste da aglicona.

Alguns tipos de oxigenação, como aqueles das posições dos carbonos 5, 7, 3' e 4', são sempre os mesmos para as duas classes. Isto é devido ao fato de flavonas e flavonóis serem originários da mesma via biossintética.

As flavonas e flavonóis mais comuns estão apresentados na tabela 2.

Apigenina e luteolina, livres (agliconas) ou conjugadas (heterosídeos), são as flavonas mais abundantes encontradas em plantas. Os flavonóis mais encontrados em vegetais são galangina, canferol, quercetina e miricetina. Isorramnetina também se encontra com frequência. Entre os heterosídeos de flavonóides, as variações estruturais são consideráveis. Os açúcares conjugados com flavonóides identificados até o presente são nove. As pentoses: D-apiose, L-arabinose, L-ramnose e D-xilose, as hexoses: D-alose, D-galactose e D-glicose e os ácidos D-galacturônico e D-glicurônico. Os flavonóides podem, também, estar associados a dissacarídeos e a trissacarídeos. Os heterosídeos

TABELA 2
Núcleo fundamental das flavonas (R=H) e flavonóis (R=OH)
e alguns representantes mais comuns

Nome trivial	Substituintes
<i>Flavonas</i>	
acacetina	4'-Me apigenina
apiína	7-O-apio-(1-2)-gli-apigenina
apigenina	5,7,4'-tri-OH
crisina	5,7-di-OH
crisoeriol	3'-Me-luteolina
diosmetina	4'-Me-luteolina
escutelareína	6-OH-apigenina
luteolina	5,7,3',4'-tetra-OH
tricetina	5'-OH-luteolina
tricina	3',5'-di-Me-tricetina
<i>Flavonóis</i>	
astragalina	3-O-gli-canferol
canferol	5,7,4'-tri-OH
fisetina	7,3',4'-tri-OH
galangina	5,7-di-OH
gossipetina	5,7,8,3',4'-penta-OH
herbacetina	5,7,8,4'-tetra-OH
isorramnetina	3'-Me-quercetina
miricetina	5,7,3',4',5'-penta-OH
miricitrina	3-O-ram-miricetina
morina	5,7,2',4'-tetra-OH
quercetina	5,7,3',4'-tetra-OH
quercitrina	3-O-ram-quercetina
ramnetina	7-Me-quercetina
rutina	3-O-rutinosídeo-quercetina

flavonoídicos mais comuns são 3-rutinosídeo quercetina (rutina) e 7-glicosídeo luteolina. As geninas mais comumente associadas a açúcares são apigenina e luteolina nas flavonas e quercetina, canferol e miricetina nos flavonóis.

3. FLAVONÓIDES C-HETEROSÍDEOS

Os flavonóides C-heterosídeos são diferenciados dos O-heterosídeos pela ligação açúcar-genina, sendo que nos primeiros a ligação é feita entre o carbono C-1 (anomérico) do açúcar e um ou dois carbonos do anel A do flavonóide (sempre nos carbonos 6 e/ou 8). O sistema de numeração é o mesmo empregado para os O-heterosídeos. Na tabela 3 estão apresentados alguns representantes desta classe. Sua principal característica química é a resistência à hidrólise ácida. Além dos C-heterosídeos de flavonas, os mais abundantes, foram identificados ainda em: flavanonas, flavonóis, di-hidroflavonóis, chalconas, di-hidrochalconas, isoflavonas, isoflavanonas, flavanóis e proantocianidinas. Também estão presentes em plantas em formas derivadas O-acilas e O-heterosídeos.

TABELA 3
Os flavonóides C-heterosídeos mais comuns

Nome trivial	Substituintes
lucenina-2	6,8-di-C-gli-luteolina
orientina	8-C-gli-luteolina
chaftosídeo	6-C-gli-8-C-ara-apigenina
escoparina	8-C-gli-crisoeriol
vicenina-1	6-C-xil-8-C-gli-apigenina
vicenina-2	6,8-di-C-gli-apigenina
vicenina-3	6-C-gli-8-C-xil-apigenina
violantina	6-C-gli-8-C-ram-apigenina
vitexina	8-C-gli-apigenina

4. ANTOCIANOS

Antociano é um termo empregado originalmente para descrever os pigmentos azuis de *Centaurea cyanus* L. É um dos mais importantes grupos de pigmentos de plantas solúveis em água, ao lado de betaninas (também hidrossolúveis) e dos carotenos (geralmente hidrofóbicos).

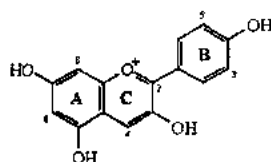
Os antocianos, distribuídos em diversas famílias vegetais, são em grande parte responsáveis pelas cores laranja, rosa, escarlate, vermelho, violeta e azul das pétalas de flores e frutos de vegetais superiores. Também são encontrados em outros órgãos de plantas como as raízes e folhas. Uma das mais

importantes funções dos antocianos é de agir como atraentes de insetos e de pássaros, com o objetivo de polinizar e dispersar as sementes, sendo assim de grande interação entre plantas e animais. Também são responsáveis pela atividade inibidora do crescimento de larvas de alguns insetos.

Pigmentos antocianínicos são responsáveis pela cor vermelha de sucos de frutas, de vinhos e doces de confeitaria. São considerados como aditivos eficazes e seguros na indústria alimentar, não sendo empregados em grande escala em razão de sua instabilidade decorrente de diferentes fatores físicos (como luz e pH, por exemplo), dificuldades de purificação e de síntese, e as possíveis reações com o dióxido de enxofre, muito empregado como conservante de alimentos. Também possuem algum interesse farmacológico resultante de suas atividades antiinflamatórias e anti edematogênicas.

As antocianidinas (forma livre) podem apresentar-se de forma mais estável na forma de heterosídeos, chamadas antocianosídeos. Os açúcares encontrados mais frequentemente são: glicose, galactose, raminose, arabinose e xilose. Esses sacarídeos estão localizados na maior parte dos casos nas posições C-3 e C-5 do núcleo flavílio (fenil-2-benzopirílio - vide tabela 4). Os antocianos e antocianidinas apresentam frequentemente substituintes acilas, sendo mais comuns os derivados dos ácidos hidroxi-cinâmicos: ácido *p*-cumárico, ácido caféico e ácido ferúlico. Os antocianos também podem fazer parte de grandes complexos coloridos com outros compostos e frequentemente diferentes metais.

TABELA 4
O cátion flavílio, núcleo fundamental dos antocianos,
e as antocianidinas mais frequentemente encontradas na natureza



Nome trivial	C-3'	C-5'
cianidina	OH	H
delfinidina	OH	OH
malvidina	OMe	OMe
pelargonidina	H	H
peonidina	OMe	H
etunidina	OMe	OH

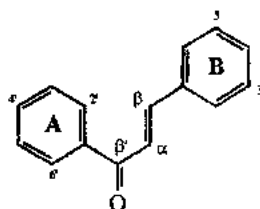
5. CHALCONAS

O termo *chalcona* é utilizado para caracterizar uma família de compostos possuindo como núcleo fundamental o 1,3-diarylpropano, modificado pela

presença de uma ligação olefínica, de um grupamento cetona e/ou de um grupo hidroxila. Nessa classe, o núcleo **A** é numerado com números ordinários seguidos de uma linha (') e o **B** com números ordinários (tabela 5), contrariamente à maioria dos outros flavonóides. Isso é devido ao fato de que as primeiras chalconas identificadas foram comparadas às acetofenonas, às quais é empregado este sistema de numeração.

As chalconas são compostos precursores da via de biossíntese dos flavonóides. Uma característica marcante neste grupo, também verificada em auronas (apresentadas a seguir), é a de apresentar pigmentação amarela que passa a vermelha em meio alcalino. Chalconas e auronas são identificadas em geral nas mesmas plantas, tendo um papel importante em sistemas ecológicos em função das cores que produzem nos vegetais. As cores estão implicadas na polinização como atraentes de insetos e/ou pássaros. Alguns representantes de chalconas estão apresentados na tabela 5.

TABELA 5
Núcleo fundamental das chalconas e alguns representantes da classe



Nome trivial	Substituintes
---	2',4'-di-OH-6'-OMe
---	2',6'-di-OH-4'-OMe
buteína	2',4',3,4-tetra-OH
coreopsina	2',3,4-tri-OH-4'-O-gli
flavocavina-B	2'-OH-4',6'-di-OMe
isoalipurposídeo	4',6',4-tri-OH-2'-O-gli
isoliquiritigenina	2',4',4-tri-OH
isoliquiritina	2',4'-di-OH-4-O-gli
mareína	2',3',3,4-tetra-OH-4'-O-gli
ocanina	2',3',4',3,4-penta-OH

A isomerização das chalconas em seus isômeros flavanonas ocorre através de uma reação de relativa facilidade, por exemplo, durante o isolamento nas plantas ou após hidrólise alcalina. As chalconas apresentam uma grande variedade de atividades biológicas, sendo as mais comuns edulcorantes ou protetores contra o calor e luz.

Esses compostos são encontrados em diferentes órgãos vegetais, sobretudo nas flores. Grande parte da cor amarela das plantas se deve à presença de carotenos, mas em certos membros das famílias Asteraceae, Oxalidaceae, Scrophulariaceae, Gesneriaceae, Acanthaceae e Liliaceae, as chalconas dão uma contribuição significativa à pigmentação da corola.

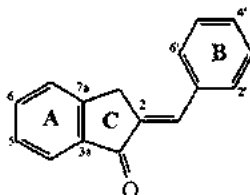
Uma classificação primária das chalconas leva em conta o número de substituintes presentes no núcleo **B**, que podem ser um, dois ou três. As chalconas de origem natural são sempre substituídas, e entre os substituintes mais comuns, localizados no núcleo aromático, estão as hidroxilas, metoxilas, *O*-glicosilas, *C*-glicosilas e *C*-alquilas.

As chalconas hidroxiladas no carbono β podem existir em duas formas tautoméricas diferentes: dicetônica e enólica. A segunda forma é a predominante. Outras formas possíveis apresentam uma hidroxila simples em C-4' - no núcleo **A** e no núcleo **B** os substituintes oxigenados em 2,4-, 2,3,4- ou 2,4,6, sendo chamados de retrochalconas. A substituição no carbono α em produtos de origem natural é muito rara.

6. AURONAS

O termo aurona foi proposto por Bate-Smith e Geissman em razão da cor de ouro apresentada por esses compostos e da semelhança estrutural com as flavonas. As auronas são derivadas de 2-benzilidenocumarona. A presença de uma ligação olefínica introduz, nessas estruturas, a isomeria geométrica. A maior parte das auronas de origem natural apresentam a configuração *Z*-olefina, sendo chamadas de *Z*-auronas (vide tabela 6). Dessa forma, aquelas que possuem a configuração *E*-olefina, são chamadas *E*-auronas. A numeração dos substituintes em auronas é feita como na maior parte dos flavonóides, isto é: os números ordinários seguidos de uma linha (') atribuídos ao núcleo **B** e os números ordinários para o núcleo **A**, contrariamente às chalconas. Uma outra possibilidade de numeração atribui o número 2 para o carbono CH-olefínico, o número 3 para o C-2, 4 para o C-3 e assim sucessivamente. Nessa classificação o C-3a e o C-7a são substituídos pelos números 10 e 9, respectivamente. Para o núcleo **B** os mesmos números são utilizados. É importante salientar que na proposição descrita na tabela 6, a posição C-4 é equivalente à posição C-5 nas outras classes de flavonóides. Quanto à classificação, deve-se observar o número de substituintes hidroxilados no núcleo **B**. As auronas também são encontradas em forma de heterosídeos.

TABELA 6
Núcleo fundamental das auronas e alguns representantes da classe



Nome trivial	Substituintes
aureusina	4,3',4'-tri-OH-6-O-gli
aureusidina	4,6,3',4'-tetra-OH
cernuosídeo	6,3',4'-tri-OH-4-O-gli
leptosina	3',4'-di-OH-7-OMe-6-O-gli
maritimina	7,3',4'-tri-OH-6-O-gli
maritimina	6,7,3',4'-tetra-OH
sulfureína	3',4'-di-OH-6-O-gli
sulfuretina	6,3',4'-tri-OH

7. DI-HIDROFLAVONÓIDES

Os representantes desta classe são: as flavanonas (ou di-hidroflavonas), di-hidroflavonóis (ou flavanonóis ou 3-hidróxi-flavanonas) e as di-hidrochalconas. Os representantes mais comuns dessa classe estão apresentados nas tabelas 7, 8 e 9. Como característica comum, possuem uma ligação simples entre os carbonos 2 e 3 (ou α e β para as di-hidrochalconas) em seu núcleo fundamental (hidrogenado), ao contrário das outras classes de flavonóides. A numeração é a mesma de seus isômeros: flavonas, flavonóis e chalconas - vide tabelas 7, 8 e 9, respectivamente. Em consequência, esses flavonóides apresentam centros de assimetria em suas moléculas. Todavia, devido ao fato de terem sido isoladas, em geral, pequenas quantidades dessas substâncias nos vegetais, a estereoquímica é frequentemente omitida em publicações.

As flavanonas são intermediários biossintéticos da maioria das classes de flavonóides. As flavanonas possuem dois centros assimétricos possíveis: o núcleo B pode apresentar as configurações 2S- ou 2R-. As flavanonas de origem natural apresentam a configuração (2S)- e são frequentemente levorrotatórias. Em di-hidroflavonóis são encontrados dois centros de assimetria, nos carbonos 2 e 3 e dessa forma quatro isômeros são possíveis para cada estrutura. Entre 30 di-hidroflavonóis identificados, que tiveram sua estereoquímica estudada, 25 possuíam a configuração (2R:3R), três (2R:3S) e dois (2S:3S). Nenhum apresentou a configuração (2S:3R) (figura 3).

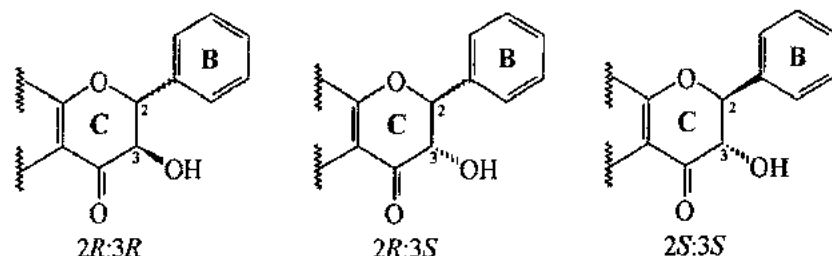
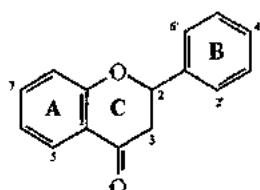


Figura 3. Estereoquímica dos di-hidroflavonóis

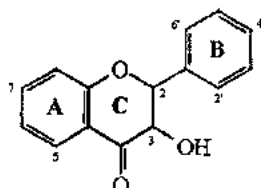
TABELA 7

Núcleo fundamental das flavanonas e os representantes mais comuns



Nome trivial	Substituintes
alpinetina	7-OH 5-OMe
butina	7,3',4'-tri-OH
citromitina	5,6,7,8,3',4'-hexa-OMe
eriodictiol	5,7,3',4'-tetra-OH
farrerol	5,7,4'-tri-OH-6,8-di-Me
glabranina	5,7-di-OH-8-prenila
hesperetina	4'-OMe-eriodictiol
hesperidina	7-O-rutinosídeo-hesperetina
liquiritigenina	4',7-di-OH
naringenina	5,7,4'-tri-OH
naringina	7-O-neo-hesperidosídeo-naringenina
pinocembrina	5,7-di-OH
pinostrobina	5-OH-7-OMe
prunina	7-O-gli-naringenina
sacuranetina	5,4'-di-OH-7-OMe

TABELA 8
Núcleo fundamental dos di-hidroflavonóis e os representantes mais comuns



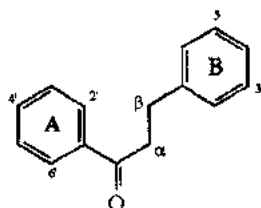
Nome trivial	Substituintes
alpinona	5-OH-7-OMe
ampelopsina (di-hidromiricetina)	5,7,3',4',5'-penta-OH
aromadendrina (di-hidrocanferol)	5,7,4'-tri-OH
astilbina	3-ram-taxifolina
di-hidromorina	5,7,2',4'-tetra-OH
garbanzol	7,4'-di-OH
lecontina	3-O-gli-garbanzol
pinobancsina	5,7-di-OH
estrobancsina	5,7-di-OH 6-Me
taxifolina (di-hidroquercetina)	5,7,3',4'-tetra-OH

As di-hidrochalconas não apresentam centros assimétricos. Da mesma forma que nas outras classes de flavonóides, as variações de estruturas consistem de substituintes hidroxilas, metilas, açúcares, alquilas, etc., dos núcleos fundamentais (vide tabela 9). Muitos di-hidroflavonóides foram identificados na forma de heterosídeos.

Os representantes desta classe de flavonóides são protetores contra doenças causadas por microorganismos em plantas. Eles podem servir como alimento dissuasivo contra insetos e animais herbívoros. Alguns representantes dessa classe podem reagir com enzimas e, como consequência, interferir em processos biológicos. Dessa forma, eles possuem uma atividade farmacológica em potencial. A atividade dos heterosídeos, em certos casos, pode ser diferente de suas geninas correspondentes. As flavanonas e as di-hidrochalconas podem apresentar uma influência no gosto, que pode ser amargo ou doce. Pequenas modificações na molécula, sejam nas posições e/ou na natureza dos açúcares ou outros substituintes nos núcleos **A** e/ou **B**, podem produzir grandes alterações nessas propriedades físicas.

TABELA 9

Núcleo fundamental das di-hidrochalconas e os representantes mais comuns



Nome trivial	Substituintes
asebogenina	2',6',4-tri-OH-4'-OMe
asebotina	6',4-di-OH-4'-OMe-2'-O-gli
davidigenina	2',4',4-tri-OH
davidiosídeo	4',4-di-OH-2'-O-gli
floretina	2',4',6',4-tetra-OH
floridzina	4',6',4-tri-OH-2'-O-gli
uvangoletina	2',4'-di-OH-6'-OMe

8. FLAVANAS, LEUCOANTOCIANIDINAS E PROANTOCIANIDINAS

Esses compostos fazem parte de uma classe de flavonóides, junto com os biflavonóides e mais recentemente os isoflavonóides, nos quais é possível encontrar estruturas oligomerizadas. Uma vez que os flavonóides da classe das proantocianidinas também fazem parte de uma das classes de taninos, estas se encontram apresentadas no capítulo "Taninos".

9. ISOFLAVONÓIDES

Os isoflavonóides são caracterizados, como os demais flavonóides, por uma cadeia arila-C3-arila, mas do tipo difenil-1,2-propano. Ao contrário das outras classes de flavonóides, sua distribuição taxonômica é restrita. Salvo raríssimas exceções, são de ocorrência exclusiva em Fabaceae. Apesar dessa restrição a uma só família botânica, tal classe apresenta uma diversidade estrutural importante: além das isoflavonas, isoflavanonas, isoflavenos e aril-3-cumarinas encontram-se estruturas ciclizadas como os pterocarpanos, cumestanos, cumaronocromonas, sendo que algumas possuem um carbono suplementar (rotenóides). Cerca de outras vinte estruturas podem se formar por diferenciação de seu nível de oxidação e variação do núcleo fundamental. Biogeneticamente, os isoflavonóides são formados, como os demais flavonóides, via chalconas. Em vegetais, uma grande parte dos isoflavonóides comporta-se como fitoalexinas - substâncias produzidas pela planta em resposta a uma infecção por um agente patogênico.

As estruturas principais de isoflavonóides estão apresentadas na figura 4. Os substituintes mais comuns são os grupamentos hidroxila, metoxila e metilenedioxila. São conhecidas muitas isoflavonas substituídas com grupamentos isoprenila. Existem também, com frequência, 5-desóxi-isoflavonóides, assim como moléculas hidroxiladas em posição C-6 e C-2'.

Em comparação com a grande variedade de flavonas e flavonóis ligados a açúcares, o número de isoflavonóides isolados sob forma de heterosídeos é muito reduzido. Os isoflavonóides C-heterosídeos são ainda mais raros.

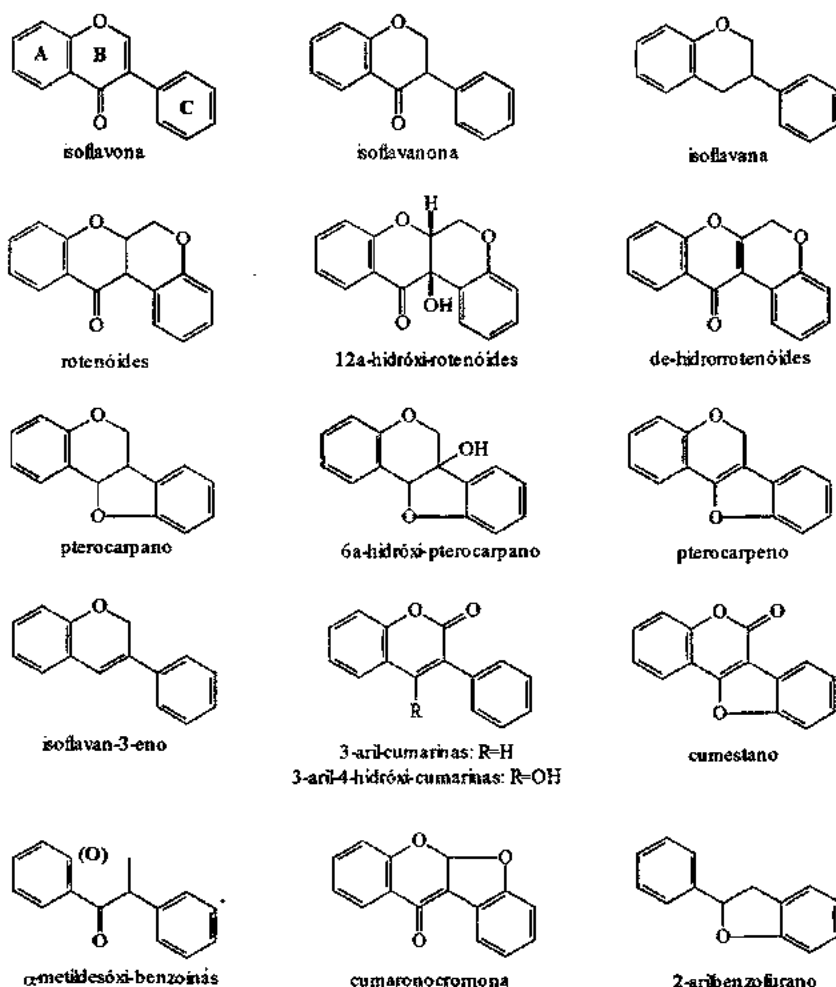


Figura 4. As estruturas dos isoflavonóides mais comuns

Na natureza, a ocorrência de isoflavonas é maior que a de isoflavononas.

Os rotenóides não possuem uma nomenclatura sistemática e são conhecidos freqüentemente por nomes triviais. Podem ser divididos em rotenóides, 12a-hidróxi-rotenóides e di-hidrorrotenóides. A maior parte dos rotenóides possui um substituinte isoprenila. Os pterocarpanos representam a maior classe de isoflavonóides, depois das isoflavonas. Apresentam um núcleo tetracíclico derivado do núcleo fundamental das isoflavonas. Os pterocarpanos apresentam uma numeração diferente das isoflavonas. Eles também são subdivididos em pterocarpanos, 6a-hidróxi-pterocarpanos e pterocarpenos.

A forma mais reduzida pertencente à classe das isoflavonas é a isoflavana. O equol, um de seus representantes, é encontrado na urina de mamí-

TABELA 10
Os isoflavonóides mais comuns

Nome trivial	Substituintes
<i>Isoflavonas</i>	
---	7-O-(6"-malonil)-gli-biochanina-A
biochanina-A	5,7,-di-OH-4'-OMe
daidzeína	7,4'-di-OH
daidzina	7-O-gli-daidzeína
formononetina	7-OH-4'-OMe
genisteína	5,7,4'-tri-OH
genistina	7-O-gli-genisteína
malonil-ononina	6"-malonil-ononina
ononina	7-O-gli-formononetina
<i>Isoflavanonas</i>	
dalbergioidina	5,7,2',4'-tetra-OH
di-hidrononia	7-O-gli-4'-OMe
di-hidróxi-formononetina	7-OH-4'-OMe
quievitona	5,7,2',4'-tetra-OH-8-isoprenila
vestitona	7,2'-di-OH-4'-OMe
<i>Pterocarpanos</i>	
maaquiaína	3-OH-8,9-OCH ₂ OH
medicarpina	3-OH-9-OMe
soforajaponicina	3-O-gli-maaquiaína
<i>Isoflavanas</i>	
equol	7,4'-di-OH
vestitol	7,2'-di-OH-4'-OMe
sativam	7-OH-2',4'-di-OMe
<i>Cumestanos</i>	
cumestrol	3,9-di-OH
vairol	3-OH-7,9-di-OMe

feros, sendo formado pela redução de isoflavonas ingeridas através da alimentação. A presença de oligômeros de isoflavonóides também foi descrita. Os principais isoflavonóides de origem natural conhecidos estão apresentados na tabela 10.

As três propriedades biológicas mais importantes dos isoflavonóides são: atividade estrogênica das isoflavonas e cumestanos, atividades antifúngicas e antibacterianas (fitoalexinas) dos isoflavonóides e as propriedades inseticidas dos rotenóides (Ver capítulo “Plantas inseticidas”).

10. NEOFLAVONÓIDES

O termo neoflavonóide é empregado para caracterizar um grupo de compostos de origem natural, contendo 15 átomos de carbono, que são associados estruturalmente e biogeneticamente aos flavonóides e isoflavonóides. Os neoflavonóides estão agrupados segundo suas estruturas e origem. Entre eles, os mais abundantes são as 4-arilcumarinas e as dalbergionas. Na figura 5, estão apresentados alguns exemplos de neoflavonóides e classes às quais pertencem.

Apesar do número limitado de estruturas isoladas, aquelas conhecidas têm sido identificadas em diferentes famílias botânicas, diversificando sua presença em vegetais.

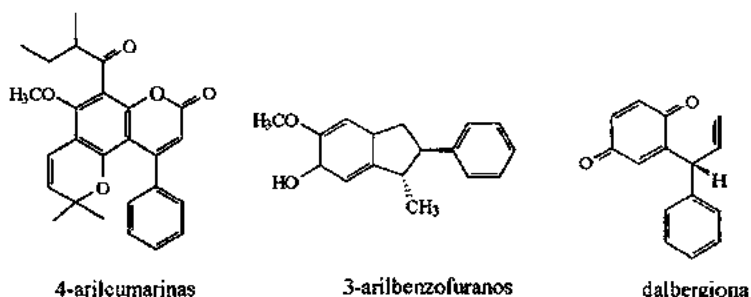


Figura 5. Alguns exemplos de neoflavonóides

11. BIFLAVONÓIDES

Os biflavonóides constituem uma classe de flavonóides diméricos, diferenciando-se de outros oligômeros como as proantocianidinas, devido à sua origem biogenética comum. A maioria dos biflavonóides de ocorrência natural são dímeros de flavonas e flavanonas - raramente chalconas - apresentando substituintes nas posições dos carbonos 5, 7, 4' e, mais raramente, 5, 7, 3', 4'. Os monômeros podem ser iguais ou de diferentes tipos: flavona-flavona, fla-

vanona-flavanona ou flavona-flavanona. Certos grupamentos hidroxilas podem apresentar-se metoxilados. Os heterosídeos são pouco freqüentes.

Existem duas maneiras de numerar os biflavonóides. Em uma delas são utilizados números ordinários para os núcleos **A** e **C** e números seguidos de uma linha (') para o núcleo **B** de um dos monômeros (como para as flavonas e flavanonas) e para a segunda unidade monomérica são empregados números ordinários seguidos de duas linhas (") para os núcleos **A** e **C** e números ordinários seguidos de três linhas (''') para o núcleo **B** (ver figura 6). Uma segunda possibilidade é empregar os números romanos I e II para cada monômero seguido da numeração comum de flavonóides, por exemplo I-3, I-4', II-5, II-2'', etc. Os biflavonóides são classificados segundo o tipo de ligações entre monômeros e o tipo de núcleo fundamental. A ligação das unidades pode se fazer entre carbono-carbono ou carbono-oxigênio-carbono. Os biflavonóides mais abundantes apresentam a ligação C-C entre C-3' e C-8''. A amentoflavona e seus éteres metilas são o exemplo desta classe. Outras ligações identificadas são os carbonos 6-8''

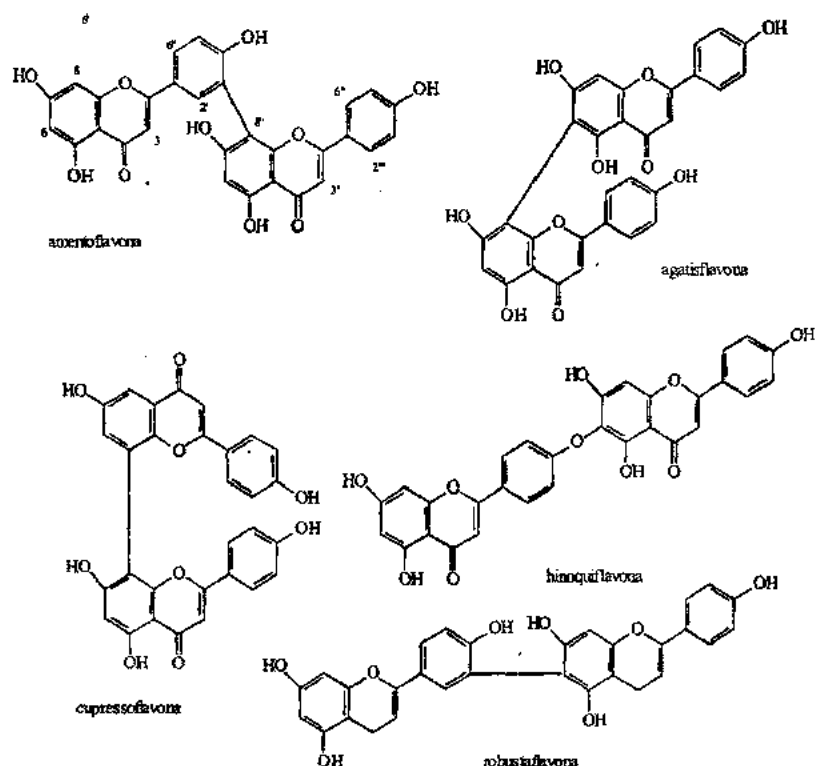


Figura 6. Classes de biflavonóides mais freqüentes

(agatisflavona), 8,8" (cupressoflavona) e 6-3" (robustaflavona). O grupoamento mais abundante dos C-O-C é a série das hinoquiflavonas, com ligação entre os carbonos 6-4" (figura 6).

Os biflavonóides são encontrados em grandes quantidades em diferentes plantas e em muitos tecidos vegetais. Apesar disso seu papel biológico não é claro. A função mais importante seria a de agir como antifúngico ou alimento dissuasivo para insetos. Uma outra seria a de proteger contra os raios ultravioletas nas folhas. As atividades farmacológicas conhecidas são, por exemplo, estimulantes cardíacos ou antiinflamatória, entre outras.

12. PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DOS FLAVONÓIDES

Em geral, as agliconas aparecem sob a forma de cristais amarelos. Os heterosídeos são geralmente solúveis em água e em álcoois diluídos, mas insolúveis nos solventes orgânicos habituais, enquanto que as respectivas agliconas são normalmente solúveis em solventes orgânicos apolares e, por possuírem caráter fenólico, em soluções aquosas alcalinas. A posição ocupada pela porção açúcar, o grau de insaturação e o grau e natureza dos substituintes influem grandemente na solubilidade da molécula e na sua capacidade de precipitação em presença de metais.

As flavonas e flavonóis são pouco solúveis em água, enquanto os di-hidroflavonóis são mais solúveis. Os 3-hidróxi-flavanos (catequinas) e os 3,4-flavanodióis são solúveis em água, mas o 3-hidróxi-flavano pode ser extraído com éter etílico e os 3,4-flavanodióis com acetato de etila. Os 5-hidróxi-flavonóides podem ser separados com soluções de bórax e os poliglicosídeos são mais solúveis em água e menos solúveis em solventes orgânicos. As antocianinas só são estáveis como sais e convém mantê-las em meio ácido armazenando-as na forma de cloridrato. As chalconas e flavanonas sendo intercambiáveis, exigem cuidado para evitar misturas.

O aquecimento, mesmo em soluções diluídas, pode levar à hidrólise dos O-heterosídeos e muitas vezes interferir na análise estrutural de flavonóides. As hidrólises alcalina e ácida facilitam a identificação dos núcleos flavônicos, enquanto a hidrólise enzimática rompe pontos específicos das moléculas, facilitando a identificação dos constituintes da parte açúcar.

13. EXTRAÇÃO DE FLAVONÓIDES

Para extração utilizam-se geralmente solventes com polaridade crescente: a primeira extração, com solvente apolar, retira óleos, gorduras, esteróis e pigmentos facilitando a extração posterior dos flavonóides. A segunda extração com solvente um pouco mais polar (clorofórmio, diclorometano, acetato de etila ou éter etílico) permite recuperar as agliconas livres pouco polares, tais

como flavonas, flavonóis, flavanonas, di-hidroflavonóis, isoflavonas e outras agliconas com alto grau de metilação. Aumentando a polaridade do solvente (acetona, metanol, água) se extraem as agliconas poli-hidroxiladas, flavonas e flavonóis mais polares, auronas, chalconas. Por último, a extração com água quente arrastará os heterosídeos mais polares, tais como os poliglicosídeos, flavanodióis, catequinas e procianidinas, e os açúcares. Em meio ácido podem-se extrair antocianinas e antocianidinas.

Na separação de agliconas e heterosídeos de um extrato de álcool etílico, uma alternativa eficiente, após eliminação do solvente, é retomar o extrato com água e proceder a uma extração em funil de separação com um solvente de média polaridade (éter etílico ou diclorometano) para separação das agliconas e, na sequência, extrair com *n*-butanol para obtenção dos heterosídeos. Convém salientar que sem estabilização na secagem, as enzimas continuam agindo, podendo levar a um falso teor de heterosídeos.

14. CARACTERIZAÇÃO DE FLAVONÓIDES

A caracterização pode ser realizada diretamente no farmacógeno (histoquímica) ou em extratos vegetais, por ensaios cromáticos, cromatográficos, espectroscópicos ou fotométricos. Os ensaios com extratos vegetais são os mais utilizados, pois permitem a avaliação simultânea de vários constituintes.

Uma desvantagem dos ensaios histoquímicos diretos é que muitos polifenóis estão localizados nos vacúolos, podendo assim ocorrer alguma perda de material durante a análise. Mas, no caso de antocianinas, que já são coradas, raramente há dificuldade na sua caracterização *in situ*, particularmente em flores e folhas estioladas. Flavonóides incolores são um pouco mais difíceis de caracterizar, mas, como ocorrem principalmente em células epidérmicas da superfície superior, podem ser rapidamente caracterizados através de suas absorvâncias em UV.

Testes *in situ* podem ser realizados quando os compostos fenólicos estão localizados na parede celular e/ou quando se tem uma alta produção dessa classe de metabólitos secundários. A reação com ácido nítrico, por exemplo, pode ser utilizada para ensaios histoquímicos de proantocianidinas incolores em cultura de células vegetais, mas só fornece resultados positivos quando os compostos fenólicos são majoritários. Em ensaios com extratos vegetais, sugere-se hidrolisar os heterosídeos passíveis de hidrólise antes da extração, de forma a se obter as agliconas livres, facilitando a identificação dos núcleos através dos ensaios cromáticos e/ou análise cromatográfica. Pode-se proceder a análises também com a parte açúcar resultante da hidrólise. A principal desvantagem das reações cromáticas para compostos fenólicos é que muitas outras substâncias presentes podem interferir na reação.

Ensaio cromáticos

Os ensaios cromáticos apresentam importância como estágio preliminar de análise e, em alguns casos, podem ser empregados às dosagens dos respectivos derivados flavônicos. Em alguns casos é possível distinguir entre as diversas classes de flavonóides. As cores obtidas variam conforme o núcleo, o número e a disposição dos substituintes hidroxilados. Dessa forma, os hidróxi-flavonóides reagem a frio com soluções alcalinas, resultando em fenolatos geralmente corados, solúveis em água, mas decomponíveis por ácidos; vapores de amônia mudam a coloração das antocianinas de vermelho para azul e de chalconas e auronas, de laranja para vermelho. Alguns exemplos de ensaios cromáticos estão apresentados a seguir.

Reação da cianidina, de Shinoda ou hidrogenação: consiste em adicionar à solução alcoólica ácida da substância um pequeno fragmento de magnésio. Essa reação baseia-se no fato de que os derivados flavônicos de cor amarela reduzem-se adquirindo coloração avermelhada ou, no caso dos antocianínicos, azulada. Esse ensaio produz reação negativa para chalconas e isoflavonas.

Reação citro-bórica ou Reativo de Wilson: as soluções cetônicas de flavonas, flavonóis e chalconas adquirem tons amarelados e fluorescência amarelo-esverdeada quando os ácidos cítrico e bórico são dissolvidos em acetona, ou soluções vermelho-alaranjado quando esses mesmos ácidos são dissolvidos em anidrido acético (Reativo de Dimroth). O ensaio é negativo com as flavanonas e isoflavonas. Quando se utiliza o ácido oxálico, somente os flavonóis com hidroxila livre em C-3 originam composto corado de amarelo-esverdeado solúvel em éter, com fluorescência verde-amarelada perceptível em grandes diluições.

Reação com H_2SO_4 conc.: os compostos flavônicos formam sais de oxônio com ácido sulfúrico concentrado que podem ser precipitados pela adição de água. As flavonas e flavonóis formam soluções fortemente amareladas, as flavanonas, laranja a vermelho e as chalconas e auronas coloração vermelho a carmim.

Reação de Marini-Bettolo: o pentacloreto de antimônio em tetracloreto de carbono reage de forma análoga ao ácido sulfúrico. As chalconas formam precipitados vermelho escuro ou violáceo e as flavonas, precipitado amarelo ou laranja.

Ensaio cromatográficos

A técnica mais empregada é a cromatografia em camada delgada (CCD), e como adsorvente pode-se utilizar gel de sílica, celulose ou poliamida. As agliconas geralmente são eluídas em sistema *n*-butanol-ácido acético-água (BAW-diferentes proporções) e os heterosídeos em ácido acético de 6 a 60%.

Em alguns casos, é preferível cromatografar o extrato vegetal bruto antes mesmo de testar a presença ou ausência de compostos fenólicos, pois muitos podem ser caracterizados diretamente através da observação da absorção ou extinção de fluorescência (no caso de a fase estacionária conter pigmento fluorescente) de radiação ultravioleta de suas manchas nas respectivas cromatoplacas.

Após a secagem, a placa é analisada sob luz ultravioleta utilizando comprimentos de onda curto (254 nm) e longo (365 nm). O exame ao ultravioleta pode ser efetuado após exposição a vapores de amônia, o que resulta em trocas significativas nas fluorescências observadas. Após a análise em ultravioleta, a cromatoplaça pode ser exposta a um ou mais dos reagentes cromogênicos listados na tabela 11.

TABELA 11
Reagentes empregados na detecção de flavonóides

Reagente	Coloração obtida	Especificidade
- AlCl ₃ 1% alcoólico	fluorescência no UV	todos flavonóides
- NaOH 2%, NH ₃ , Na ₂ CO ₃ 0,2%	várias cores	muitos compostos fenólicos
- <i>p</i> -Nitroanilina 0,2% diazotada com 20% Na ₂ CO ₃	várias cores	todos compostos fenólicos
- Reagente de Gibbs (2,6-dicloroquinona 2% alcoólico; clorimida com AcOH ou Na ₂ CO ₃)	várias cores	muitos compostos fenólicos
- Difenilborato 1% em metanol (Reagente Natural A)	laranja, amarelo ou verde	todos flavonóides
- FeCl ₃ 1% alcoólico	azul, verde, marrom ou vermelho	muitos compostos fenólicos
- FeCl ₃ ou K ₂ Fe(CN) ₆ 1% aq.	azul	todos compostos fenólicos
- Reagente de Folin-Ciocalteu (fosfomolibdato-fosfotungstato)	azul	todos compostos fenólicos
- AgNO ₃ amoniacal 5% em acetona	preto	todos compostos fenólicos
- Vanilina clorídrica 0,1%	cor-de-rosa	muitos compostos fenólicos

O reagente Folin-Ciocalteu (solução comercial) seguido da exposição de vapores de amônia é o reagente cromogênico de escolha para a detecção de flavonóides. Com esse reagente, os compostos com núcleo catecol ou hidroquinona aparecem imediatamente como manchas azuladas ou acinzentadas após o tratamento com amônia.

A cromatografia bidimensional pode auxiliar na identificação de muitas substâncias, uma vez que diferentes classes de compostos fenólicos geralmente apresentam mobilidades características com este sistema. A combinação da posição e da coloração desenvolvida é uma informação importante para o reconhecimento de muitas das substâncias presentes. Outras técnicas cromatográficas como cromatografia em papel (CP), cromatografia circular (cromatotron) e cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) também podem ser utilizadas. Após desenvolvida uma coloração, seja em reações coradas ou nas cromatoplacas, a cor e/ou a natureza da fluorescência

no ultravioleta podem ser relacionadas com a natureza estrutural dos diferentes grupos flavônicos.

15. ISOLAMENTO E PURIFICAÇÃO

A separação preliminar da fração fenólica de extratos vegetais pode ser realizada através de reagentes de precipitação como acetato de chumbo, pela extração em meio alcalino seguida da acidificação, ou pela extração em aparelho contínuo de Soxhlet utilizando-se solventes em polaridades crescentes.

Técnicas clássicas de separação como cromatografia em coluna, utilizando poliamida, sephadex LH-20, amberlite ou resina de troca iônica, além de cromatografia em papel, cromatografia circular, cromatografia em camada delgada preparativa, cromatografia líquida de média pressão e cromatografia líquida de alta eficiência (CLMP e CLAE), cromatografia gasosa (CG) e recristalização com etanol, metanol ou clorofórmio, quando aplicadas adequadamente, oferecem excelentes resultados.

Na cromatografia em camada delgada preparativa ou na cromatografia em papel, após a visualização das bandas no ultravioleta, essas devem ser raspadas ou cortadas, respectivamente, eluídas, concentradas e então purificadas. A cromatografia em papel é aplicada para heterosídeos, sendo uma técnica de baixo custo. Entretanto, a separação de alguns glicosídeos empregando-se cromatografia em papel é muitas vezes difícil, senão impossível. A cromatografia em camada delgada preparativa, a cromatografia circular e a cromatografia em coluna são aplicáveis a compostos menos hidrofílicos, como as agliconas livres e oferecem uma separação mais rápida e com melhor resolução que a cromatografia em papel.

A cromatografia gasosa é restrita a poucas agliconas termoestáveis e voláteis. Normalmente, é necessária a realização de derivatização para que haja o aumento da volatilidade dos flavonóides, limitando o uso dessa técnica na separação de flavonóides.

A CLAE é uma das técnicas mais utilizadas para separação de misturas complexas de substâncias orgânicas. Consiste em uma técnica versátil, que possibilita a separação de flavonóides com excelentes resultados. Embora possa separar uma ou mais classes de flavonóides, tal técnica é mais utilizada na separação de substâncias de uma mesma classe estrutural e, através do tempo de retenção relativo, pode ser utilizada também na caracterização desses compostos. Alguns aparelhos de CLAE, possuindo detectores de diodos em série, tornam possível associar diretamente o espectro ultravioleta ao pico detectado no cromatograma.

A eletroforese em papel tem sido pouco utilizada, apresentando importância somente para compostos contendo carga. Essa técnica é aplicável para diferen-

tes sulfatos, desde que apresentem diferentes migrações para o ânodo, sendo utilizada tanto para *screening* quanto para a purificação.

16. DOSEAMENTO DE FLAVONÓIDES

A dosagem conjunta dos flavonóides é dificultada pelo comportamento dos heterosídeos das respectivas agliconas e pela dificuldade de isolamento dessas substâncias de outras classes de fenóis.

Reações de precipitação são muito utilizadas, como a precipitação com cloreto de alumínio em meio alcalino, através da formação de um gel que adsorve os flavonóides permitindo purificá-los por lavagem e centrifugação. Esse precipitado dissolve-se posteriormente em ácido acético adquirindo colorações próprias, permitindo assim, a dosagem colorimétrica.

A partir dos ensaios cromáticos citados anteriormente, pode-se realizar técnicas fotométricas que, quando se dispõe de elementos para montagem de uma curva padrão, é uma técnica rápida e de fácil dosagem. As diferentes técnicas de cromatografia, assim como a eletroforese, também podem ser utilizadas.

Na análise de substâncias convenientemente purificadas, pode-se utilizar o método espectrofotométrico, medindo-se a absorção em determinados comprimentos de onda.

A CLAE é considerada um método rápido e preciso, permitindo a separação e doseamento de quantidades relativamente pequenas de material.

17. IDENTIFICAÇÃO DE FLAVONÓIDES

A espectroscopia no ultravioleta é a principal técnica tanto para a detecção quanto para o monitoramento da pureza de derivados flavônicos durante os processos de isolamento. Possuem espectros de absorção característicos no ultravioleta, determinados pelo núcleo comum da benzopirona, com dois máximos de absorção: um ocorrendo entre 240-285 nm (banda II) e outro entre 300-400 nm (banda I). Em geral, a banda II pode ser considerada como devida à existência do anel A e a banda I devida ao anel B. Em flavonas a banda I aparece entre 304-350 nm e em flavonóis entre 352-385 nm. Di-hidroflavonóis, flavanonas e isoflavonas exibem uma banda I de baixa intensidade, frequentemente aparecendo como ombro da banda II. As chalconas e auronas apresentam um espectro UV com uma banda I dominante e uma banda II relativamente pequena. Em chalconas observa-se uma banda II com máximos entre 220-270 nm e banda I com máximos entre 340-390 nm, ocorrendo frequentemente um pico entre 300-320 nm. As antocianinas e antocianidinas apresentam uma banda I com máximo de absorção entre 465-550 nm e banda II representada por um sinal de pequena intensidade, ocorrendo entre 270-280

nm. O aumento do grau de hidroxilação do núcleo leva ao aumento do efeito batocrômico e, conseqüentemente, os espectros deslocam-se no sentido dos maiores comprimentos de onda. A metilação ou esterificação dos grupamentos hidroxila não altera, em geral, os respectivos espectros, exceto na hidroxila característica dos flavonóis (em C-3) ou em C-4', quando se percebe efeito hipsocrômico na banda de maiores comprimentos de onda.

Em geral, outras técnicas espectroscópicas, tais como infravermelho e ressonância magnética nuclear, são reservadas para compostos puros. A espectrometria de massas é importante para a determinação do peso molecular e, quando associada à cromatografia gasosa, constitui-se em um importante método de identificação, podendo ser útil também durante o processo de triagem.

A possibilidade de interconversão estrutural de flavonóides deve sempre ser levada em consideração, como, por exemplo, a isomerização entre flavanonas e chalconas e a conversão de flavanona em flavonol e flavonas.

18. PROPRIEDADES FARMACOLÓGICAS DOS FLAVONÓIDES

A grande abundância e diversidade dos flavonóides sugerem que eles sejam importantes para as plantas superiores. Contudo não está claro que também o sejam para o homem. De fato, pode-se inferir que os seres humanos ingerem muitos gramas de flavonóides diariamente, sendo encontrados com frequência nas frutas e em muitas outras espécies vegetais, no vinho, em cereais e ocasionalmente em corantes alimentares. Entretanto, não há, até o momento, comprovação evidente de que esses metabólitos sejam imprescindíveis à alimentação humana.

O emprego terapêutico de plantas contendo flavonóides é vasto e, em muitos casos, ainda empírico. Embora alguns resultados tenham mostrado que os flavonóides possam apresentar efeito mutagênico, em geral, são considerados como benéficos. Alguns medicamentos são elaborados a partir de flavonóides, em particular para o tratamento de doenças circulatórias, hipertensão e agindo como cofator da vitamina C. Outras pesquisas sugerem que alguns flavonóides são responsáveis por ação antitumoral considerável, podendo ainda agir como antivirais, anti-hemorragicos, hormonais, antiinflamatórios, antimicrobianos e antioxidantes. Na tabela 12 estão citadas algumas das atividades farmacológicas atribuídas a alguns flavonóides.

Atividade antiviral

A maioria dos estudos sobre a atividade antiviral de flavonóides tem se restringido ao grupo das flavonas de maior ocorrência, flavonóis, chalconas e seus análogos sintéticos, sendo os heterosídeos considerados menos ativos que as agliconas (Hudson, 1990).

À quercetina tem sido atribuída atividade virucida contra vírus envelopados: vírus herpético simples do tipo 1, vírus respiratório sincicial, pseudo-raiva, parainfluenza 3 e sindbis (Kaul et al., 1985; Musci e Pragai, 1985), e ao derivado 3-O-metilado da quercetina foi atribuída atividade contra o vírus da poliomielite, inibindo uma das etapas da replicação viral. A 3-O-metilquercetina e a 3,3'-dimetilquercetina inibem a multiplicação do vírus da poliomielite do tipo 1, do coxsackievírus tipo B4 e do rinovírus, em cultura de células (Vrijssen et al. 1984).

As flavonas diosmina e hesperidina inibem a replicação do rotavírus, agente etiológico de diarreias, que são muito frequentes em países do terceiro mundo (Bae et al., 2000).

A baicaleína, uma triidróxi-flavona, também foi descrita como capaz de inibir a transcriptase reversa do vírus HIV-1, em concentrações inferiores a 2 mg/ml, enquanto as ADN-polimerases celulares não são afetadas pela mesma substância. Os estudos de relação estrutura-atividade mostraram que a presença da insaturação entre as posições 2 e 3 do anel pirona e os grupos hidroxila das posições 5, 6 e 7, como na baicaleína, são requisitos importantes para a inibição desta enzima (Tan et al., 1992).

Atividade antioxidante

Os flavonóides e outros derivados fenólicos são conhecidos por atuarem na captura e neutralização de espécies oxidantes como o ânion superóxido ($O_2^{\cdot-}$), radical hidroxila ou radical peróxido, atuando por sinergismo com outros antioxidantes como as vitaminas C e E. Alguns flavonóides são capazes de se ligar a íons metálicos, impedindo-os de atuarem como catalisadores na produção de radicais livres. Esta atividade é o resultado de um conjunto de propriedades, tais como atividade quelante de ferro, atividade sequestrante de radicais livres, inibição das enzimas cicloxigenase, lipoxigenase, NADPH-oxidase, xantina-oxidase e fosfolipase, e estimulação de enzimas com atividade antioxidante como a catalase e a superóxido-dismutase. Assim, os flavonóides podem interferir nas reações de propagação e formação de radicais livres (Trueba e Sanchez, 2001).

Do ponto de vista estrutural, sabe-se, por exemplo, que a buteína e outras 3,4-diidróxi-chalconas são mais ativas que as flavonas análogas, devido a sua maior deslocalização eletrônica. Da mesma forma, isoflavonas são muitas vezes mais ativas que flavonas devido ao efeito estabilizante da carbonila em C-4 e hidroxila em C-5. A flavona baicaleína, extraída de *Scutellaria baicalensis* Georgi, e a antocianidina e a cianidina, isoladas de cerejas amargas, também apresentam atividade antioxidante, sendo empregadas na indústria de alimentos.

As substâncias quercetina, isorramnetina e ramnozina apresentam potente efeito inibidor da peroxidação microsomal de lipídeos. Esta atividade também foi observada para a luteolina, eriodictiol e taxifolina. A inibição da

peroxidação lipídica em microsomas também foi descrita para quercetina, morina, canferol e miricetina (Haraguchi, 2001).

Entre as chalconas, tem sido relatada a atividade antioxidante das retro-chalconas licochalconas A, B, C e D e da equinatina. O mecanismo de ação é devido, possivelmente, à facilidade do núcleo catecólico de sofrer oxidação e à formação de um radical *orto*-semiquinona estável. Com relação às características estruturais, ficou evidenciado que a presença dos grupos *orto*-diidróxi nas posições 3' e 4' da flavona é importante para esta atividade biológica (Haraguchi et al., 1998).

Atividade antiinflamatória

A atividade antiinflamatória desta classe de substâncias tem sido bastante investigada como os extratos aquoso e hidroetanólico das inflorescências de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC., Asteraceae. Foi demonstrada atividade no modelo de pata de rato induzido por carragenina, atividade também verificada para os flavonóides quercetina, luteolina e 3-O-metilquercetina, isolados desta espécie vegetal (Simões et al., 1988).

A atividade antiinflamatória de flavonóides é explicada, em parte, como sendo devido à inibição da ciclooxigenase (COX). Para Moroney et al. (1988) os flavonóides fisetina, hipolaetina, miricetina e quercetina inibem seletivamente a enzima 5-lipoxigenase, envolvida na formação dos leucotrienos a partir do ácido araquidônico. As substâncias santina e 6-hidróxi-canferol-3,6-dimetil-éter, derivados do canferol e isolados de *Tanacetum parthenium* Sch. Bip., atuam inibindo as enzimas COX e 5-lipoxigenase. Para a aglicona canferol também foi relatada atividade antiinflamatória por inibição da granulação tecidual. A substância artemetina, obtida das folhas de *Cordia verbenacea* DC., também apresenta importante atividade antiinflamatória *in vivo* e reduz a permeabilidade vascular induzida por histamina e a formação de granuloma (Sertié et al., 1990).

A atividade antiinflamatória *in vivo* e *in vitro* também tem sido citada para hesperidina e diosmina, algumas vezes comercializadas em associação com esta finalidade, cuja atividade antiinflamatória é atribuída à inibição da síntese das prostaglandinas PGE2 e PGE2a e à atividade antioxidante (Garg et al., 2001).

Outras substâncias deste grupo com atividade antiinflamatória são apigenina e quercetina, sendo a apigenina capaz de inibir o crescimento de fibroblastos, os quais têm importante papel na granulação e no processo de cicatrização (Harborne e Williams, 2000).

Para a vogonina é relatada atividade inibidora direta da isoenzima COX-2 e indireta da produção de óxido nítrico e da síntese de COX-2, sendo assim considerada uma potente substância para o tratamento da inflamação (Chi et al., 2001).

As antocianidinas apresentam ação antiinflamatória por inibição da liberação e da síntese de substâncias endógenas, que promovem inflamação como histamina, protease e leucotrienos (Amella et al., 1985; Baruch, 1984). O emprego clínico destas substâncias tem demonstrado eficácia na prevenção do edema pós-operatório da face (do inglês *post-lifting*) (Baruch, 1984). A ação anti-histamínica de pró-antocianidinas é mediada pela inibição da enzima histidina-descarboxilase, que é responsável pela produção de histamina. Este efeito é aumentado pela capacidade das pró-antocianidinas de inibir a hialuronidase, enzima que facilita a liberação da histamina dos tecidos. Em função deste efeito, as antocianidinas apresentam forte ação antialérgica. Isto também pode ser explicado pela capacidade das pró-antocianidinas de reforçar a membrana celular de basófilos e de mastócitos que contém substâncias alergênicas, prevenindo assim a hipersensibilidade (Amella et al., 1985; Pearce et al., 1984).

Atividade antitumoral

Vários estudos têm relatado o potencial dos flavonóides na quimioterapia preventiva do câncer, e alguns têm demonstrado capacidade de interagir sobre a gênese do câncer, bloqueando o estágio de promoção, através da inibição da síntese da ornitina-descarboxilase. As classes que têm apresentado atividade antitumoral *in vitro* e em modelos animais são: chalconas, flavanonas, flavanóis, flavonas, flavonóis e isoflavonas. Entre os flavonóis, o galato de epigallocatequina, presente em folhas de *Camellia sinensis* (L.) Kuntze, mostrou atividade preventiva no modelo animal de câncer duodenal e o mecanismo desta atividade envolve a inibição da liberação do fator de necrose tumoral alfa (TNF- α). Para a quercetina, foram descritas a inibição da incidência de papilomas de pele em cobaias e a inibição de fibrossarcoma induzido em camundongos. Para as isoflavonas genisteína e biochanina A também foi descrita atividade antitumoral. A primeira, quando aplicada topicamente, reduziu o número de carcinomas de pele em camundongos (Chang e Kinghorn, 2001).

A galangina é considerada, por alguns autores, uma molécula promissora na quimioterapia preventiva do câncer, uma vez que é capaz de proteger células do estresse oxidativo e suprimir a mutagenicidade e a clastogenicidade de agentes alquilantes (Heo et al., 2001).

Os compostos 6,8-diidroxi-benziltaxifolina e 8-hidroxi-benziltaxifolina, isolados de *Cudrania tricuspidata* (Carrière) Bureau ex Laval, apresentaram citotoxicidade contra células tumorais humanas de pele, colo, rins e leucemias (Lee et al., 1996). Outras substâncias como 4',7"-di-O-metil-amentoflavona e 7"-O-metil-robustoflavona, isoladas de espécies de *Selaginella*, mostraram-se ativas contra células humanas tumorais de mama, intestino, colo, próstata, fibrossarcoma, glibostoma, carcinoma epidermóide oral e leucemias (Silva et al., 1995).

Também a flavona jaceosidina, isolada de *Arnica montana* L. e *Arnica chamissonis* Less., apresentou citotoxicidade elevada para células colorretais humanas e carcinoma de intestino delgado (Woerdenbag et al., 1994).

Do ponto de vista epidemiológico, as incidências de câncer de colo, de endométrio e de ovário são menores na Ásia e na Europa oriental do que no ocidente, o que tem sido atribuído à dieta rica em produtos de soja, espécie vegetal com importante teor em isoflavonas, consumidos em grande quantidade nos países asiáticos.

A isoflavona daidzeína demonstrou atividades citostática e citotóxica dose-dependentes. Outras substâncias deste grupo, como a biochanina A e a genisteína, inibem o crescimento de células de adenocarcinoma colorretal, efeito atribuído à capacidade de ativação da apoptose. Outros mecanismos, como a inibição da tirosina-quinase, das topoisomerases I e II e da quinase-S6-ribossomal, seriam responsáveis pela morte celular (Knight e Eden, 1995).

Embora estudos clínicos ainda sejam necessários para melhor esclarecer os efeitos benéficos deste grupo de substâncias no tratamento do câncer, os dados epidemiológicos e de testes *in vitro* apontam para o potencial de emprego clínico destes metabólitos.

Atividade sobre a permeabilidade capilar

Aos flavonóides rutina e hesperidina têm sido atribuída propriedade protetora capilar ou ação tônico-venosa. Chamadas historicamente de fatores P ou vitamina P, estas substâncias são empregadas no tratamento de enfermidades caracterizadas por hemorragias e fragilidade capilar. Assim, especialidades farmacêuticas a base de flavonóides são comercializadas, no Brasil e em países europeus, como medicação para o tratamento de alguns distúrbios circulatórios.

Estudos das décadas de 30 e 40 já relatavam que a administração diária de 30 mg de hesperidina diminuía a permeabilidade e aumentava a resistência capilar. O efeito benéfico desta substância foi observado no tratamento da púrpura hemorrágica e da fragilidade capilar, tendo sido atribuída à sua ação sobre a enzima hialuronidase, que tem a capacidade de aumentar a permeabilidade e diminuir a fragilidade capilar (Gang et al., 2001).

Alguns flavonóides, como diosmina, hesperidina, quercetina e rutina, são comercializados nos Estados Unidos e em países europeus como anti-hemorrágicos e para melhorar as funções capilares. Também são utilizados para diminuir danos capilares, a insuficiência venosa e para tratar hemorroidas (Parfitt, 1999). Estudos clínicos mostraram que especialidades farmacêuticas, contendo uma mistura de diosmina e hesperidina micronizadas, melhoram o tônus venoso, aumentando a microcirculação em pacientes com insuficiência venosa, reduzindo os sintomas da crise aguda de hemorroidas (Cospite 1994). No Brasil, esta mistura é comercializada com a indicação de venotônico e vas-

culoprotetor e para o tratamento de varizes, hemorróidas e hemorragias. Também existem especialidades farmacêuticas elaboradas com extratos de *Ginkgo biloba* L., espécie rica em heterosídeos de flavonóis e biflavonóides, aos quais é atribuída atividade favorável sobre a insuficiência vascular.

Alguns estudos têm demonstrado que pessoas com baixo consumo de flavonóides apresentam maior risco de doenças coronarianas (Knekt, 1996). Outros estudos mostram que dietas ricas em flavonóides, principalmente quercetina, estão associadas a menor incidência de acidente vascular cerebral. Estas substâncias também inibem a peroxidação microsomal no coração, atuando assim como cardioprotetoras (Van Acker et al., 1996).

Atividade hormonal

Estudos relatam uma menor incidência de osteoporose em mulheres asiáticas do que em mulheres ocidentais, havendo evidências de que as isoflavonas previnem a fragilidade óssea. A ipriflavona, uma isoflavona sintética, auxilia na manutenção da densidade óssea em mulheres na fase de pré-menopausa e mantém ou mesmo aumenta a densidade óssea em mulheres na fase de pós-menopausa (Knight e Eden, 1995).

No mercado brasileiro, existem especialidades farmacêuticas contendo a ipriflavona para reposição hormonal ou para o tratamento e prevenção da osteoporose, reduzindo a liberação de cálcio ósseo e a reabsorção óssea.

Farmacocinética

Embora a presença de flavonóides na dieta humana seja evidente, ainda existem poucos estudos sobre a capacidade dos mesmos de serem absorvidos e alcançarem seu sítio de ação. A absorção por via oral destas substâncias ainda não está clara. Para certos autores, após administração oral, a quercetina não é detectada no plasma e nem na urina, seja *in natura* ou sob a forma de metabólitos, o que exclui a absorção desta substância em quantidade superior a 1% (Ferry et al., 1996; Gugler et al., 1975).

Estudos sobre a biodisponibilidade e a metabolização da quercetina, em animais de experimentação, indicaram que, após administração oral, a absorção no intestino delgado ocorre, principalmente, na forma de glicuronídeos e, apesar do emprego de altas doses, as concentrações plasmáticas encontradas são baixas, sendo que a conjugação com os ácidos glicurônico e sulfúrico ocorre, preferencialmente, na parede intestinal (Ader et al., 2000). Ensaios empregando células humanas Caco-2 sugerem que a quercetina é facilmente absorvida no epitélio intestinal humano, o que não ocorre com seus derivados 4'-glicosídeo e 3,4'-diglicosídeo (Walgren et al., 1998).

TABELA 12
Atividades farmacológicas atribuídas a alguns flavonóides

Atividade	Flavonóide	Referências
antitumoral	quercetina	Formica e Regelson, 1995
antiespasmódica	quercetina-3-glicosídeo; rutina; pinostrobin	Mata et al., 1997
antiinflamatória	5,7,3'-tridróxi-3,6,4'-tri-metóxi-flavona	Abad et al., 1993
	5,3'-dihidroxi-4'-metóxi-7-carbometóxi-flavonol	
	buteína; coparina; 3'-O-metil-violanona; xenognosina B	Chan et al., 1998
	ternatina	Lima et al., 1996
antimicrobiana	quercetina	Duwiejua e Zeitlin, 1993
	7', 4'-dihidroxi-5-metóxi-flavona	Gutkind et al., 1984
	4',2,4'-tri-dihidroxi-6'-metóxi-chalcona	Beil et al., 1995
	3',4',5,7-tetra-hidroxi-3-metóxi-flavona; quercetina	
antimutagênica	nobiletina; tangeretina	Calomme et al., 1996
antiúlcera	quercetina	Alarcon et al., 1994
		Beil et al., 1995
antiviral	quercetina	Formica e Regelson, 1995
	acacetina; apigenina; crisina	Critchfield et al., 1996
	pectolinargenina	Perry e Foster, 1994
	canferol; galangina; luteolina; quercetina	Amoros et al., 1992
	quercetina; quercitrina	Mucsi e Pragaj, 1985
	amentoflavona	Ma et al., 2001
antioxidante	quercetina; diidroquercetina; rutina	Larson, 1988
	mistura 90% diosmina e 10% hesperidina	Cypriani et al., 1993
	diosmina; catequina; quercetina	Morel et al., 1993
	luteolina-3'-O-β-D-glicuronídeo	Okamura et al., 1994
	luteolina-3'-O-(4'-O-acetil)-β-D-glicuronídeo	
	luteolina-3'-O-(3''-O-acetil)-β-D-glicuronídeo; hesperidina	
estrogênica	8-isopentenilnaringenina	Kitaoka et al., 1998
tripanossomícida	5,4'-dihidroxi-7-metóxi-flavanona	Ribeiro et al., 1997
	5,4'-dihidroxi-3,6,7-trimetóxi-flavanona	

Quanto ao metabolismo, estudos em ratos, que receberam dieta com 0,25% de quercetina e 0,25% de catequina, indicaram que os metabólitos destas substâncias ocorrem no plasma na forma conjugada, sendo que a catequina ocorre principalmente na forma de glicuronídeo e a quercetina na forma sulfo- e glico-sulfo-conjugado (Manach et al., 1999). Entretanto, outros estudos indicam que os flavonóides quercetina, isoquercitina e rutina, administrados por via oral em ratos, não são eliminados como tal pela urina, nem os seus metabólitos na forma de glicuronídeo ou sulfato (Choudhury et al., 1999).

Também foi observado em humanos, que a quercetina é extensivamente ligada às proteínas plasmáticas, principalmente à albumina, e somente 2% ou menos se apresenta na forma livre (Boulton et al., 1998).

Toxicidade de flavonóides

Os flavonóides, normalmente não são considerados substâncias tóxicas e várias especialidades farmacêuticas os descrevem como isentos de toxicidade. Todavia, não há atualmente respaldo na literatura científica para isentá-los. Mesmo assim, recomendam-se doses elevadas, o que poderia induzir danos ao DNA (Trueba e Sanchez, 2001). Esta toxicidade pode ser exemplificada pelo efeito mutagênico sobre *Salmonella typhimurum* da quercetina e canferol, entre outros derivados (Martino, 2000).

Isto mostra que, embora os flavonóides constituam um dos grupos de metabólitos secundários com grande potencial terapêutico curativo e preventivo de várias enfermidades, ainda são necessários estudos clínicos e toxicológicos que permitam o emprego destas substâncias com maior segurança.

19. DROGAS VEGETAIS CLÁSSICAS

Diversos vegetais empregados na medicina popular têm ações atribuídas à presença de flavonóides. Alguns experimentos farmacológicos justificam essas afirmações. Todavia, é importante sublinhar que a quase totalidade dos vegetais possui algum tipo de flavonóide, tornando difícil em muitos casos atribuir-lhes exclusivamente a responsabilidade de uma atividade farmacológica específica. A seguir, são citados exemplos de drogas vegetais empregadas em terapêutica com teor significativo de flavonóides.

CITROS

Família botânica: Rutaceae

Os cítricos são árvores de origem oriental, cultivados pelo seus frutos. Existem inúmeras espécies, variedades e híbridos do gênero *Citrus*, além de alguns gêneros afins, como *Fortunella*. Muito utilizados devido ao seu teor em óleo volátil, são também fontes de pectinas e flavonóides. Estes, abundantes no pericarpo, são principalmente heterosídeos de flavanonas (hesperidosídeo, naringosídeo, eriodictiosídeo, entre outros) e heterosídeos de flavonas (disomina, rutosídeo entre outros). São chamados de citroflavonóides, sendo empregados puros ou em associações diversas, como por exemplo com ácido ascórbico. A indicação reconhecida para as formas contendo citroflavonóides é sobretudo no tratamento de manifestações de insuficiência venosa crônica, funcional e orgânica dos membros inferiores.

GINCO

Nome científico: *Ginkgo biloba* L.

Família botânica: Ginkgoaceae

Parte utilizada: folhas (*Folium ginkgo*)

Árvore de origem oriental, é cultivada em muitos países (Coréia, França e Estados Unidos) com o objetivo de produzir folhas para o mercado farmacêutico.

Composição química:

Além de esteróis, álcoois e cetonas alifáticas, ácidos orgânicos, sesquiterpenos (bilobalida) e açúcares, a folha de ginkgo contém dois grupos de compostos dotados de propriedades farmacológicas interessantes: os flavonóides e diterpenos. Os flavonóides são representados por cerca de vinte compostos, derivados heterosídeos de flavonóis e biflavonóides.

Dados farmacológicos:

A ação dos terpenos (conhecidos como gincolídeos) está relacionada à capacidade destes em inibir o PAF (fator de ativação plaquetária) e aos flavonóides é atribuída uma atividade captadora de radicais livres. O uso preconizado é o de extratos estandardizados em flavonóides (24%) e gincolídeos (6%), sendo indicado em arteriopatas crônicas, corretivo dos sintomas da diminuição intelectual patológica de pessoas idosas entre outras indicações.

MARACUJÁ

Nome científico: *Passiflora alata* Curtis e *Passiflora edulis* Sims

Família botânica: Passifloraceae

Parte utilizada: folhas e partes aéreas

Monografias farmacopéicas: F. Bras. II, DAB 10, Ph. Franç. X, Ph. Helv. VII

As folhas secas de maracujá são empregadas como sedativo, embora os responsáveis por essa atividade não sejam conhecidos com clareza. Dessa forma, emprega-se o total dos constituintes das folhas do vegetal. Diversas espécies são conhecidas em todo o Brasil, sendo *Passiflora edulis* Sims e *Passiflora alata* Curtis as mais cultivadas. Nas farmacopéias da Europa encontra-se ainda inscrita *Passiflora incarnata* L.

Dados químicos:

Os constituintes químicos identificados são: ácidos fenólicos, cumarinas, fitosteróis e heterosídeos cianogênicos, cerca de 0,05% de maltol (2-metil-3-hidróxi-pirona), menos de 0,03% de alcalóides indólicos (harmana, e em alguns lotes, harmol, harmina e seus derivados di-hidrogenados) e numerosos flavonóides. Os flavonóides majoritários são di-C-heterosídeos de flavonas.

Dados farmacológicos:

A tradição atribui ao maracujá propriedades sedativas, antiespasmódicas e ansiolíticas, parcialmente confirmadas por experiência em animais.

20. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABAD, M.J.; BERMEJO, P.; VILLAR, A.; VALVERDE, S. Anti-inflammatory activity of two flavonoids from *Tanacetum microphyllum*. *J. Nat. Prod.*, v. 56, p. 1164-1167, 1993.
- ADER, P.; WESSMANN, A.; WOLFRAM, S. Bioavailability and Metabolism of the Flavonol Quercetin in the pig. *Free Rad Biol. Med.*, v. 28, p. 1056-1067, 2000.

- ALARCON DE LA LASTRA, C.; MARTIN, M.J.; MOTILVA, V. Antiulcer and gastroprotective effects of quercetin: a gross and histologic study. *Pharmacol.*, v. 48, p. 56-62, 1994.
- AMELLA, M.; BRONNER, C.; BRIANCON, F.; HAAG, M.; ANTON, R.; LANDRY, Y. Inhibition of mast cell histamine release by flavonoids and biflavonoids. *Planta Med.*, v. 52, p. 16-20, 1985.
- AMOROS, M.; SIMÕES, C.M.O.; GIRRE, R.L.; SAUVAGER, F.; CORMIER, M. Synergic effect of flavones and flavonols against *Herpes simplex virus* type 1 in cell culture. Comparison with the antiviral activity of propolis. *J. Nat. Prod.*, v. 55, p. 1732-1740, 1992.
- BAE, E.-A.; HAN, M.J.; LEE, M.; KIM, D.-H. *In vitro* inhibitory effect of some flavonoids on rotavirus infectivity. *Biol. Pharm. Bull.*, v. 23, p. 1122-1124, 2000.
- BARUCH, J. Effet de l'endotélion dans les œdèmes post-chirurgicaux - Résultats d'une étude en double aveugle contre placebo sur trente-deux patientes. *Ann. Chir. Plast. Esthét.*, v. 29, p. 393-395, 1984.
- BEIL, W.; BIRKHOLZ, C.; SEWING, K.F.R. Effects of flavonoids on parietal cell acid secretion, gastric mucosal prostaglandin production and *Helicobacter pylori* growth. *Arzneim. Forsch.*, v. 45, p. 697-699, 1995.
- BOULTON, D.W.; KRISTINA, U.; WALLE, T. Extensive Binding of Bioflavonoid Quercetin to Human Plasma Proteins. *J. Pharm. Pharmacol.*, v. 50, p. 243-249, 1998.
- BRUNETON, J. *Pharmacognosie - phytochimie, plantes médicinales*. Paris: Lavoisier, 1993.
- CALOMME, M.; PIETERS, L.; VLIETINCK, A.; VANDEN BERGUE, D. Inhibition of bacterial mutagenesis by *Citrus* flavonoids. *Planta Med.*, v. 62, p. 222-226, 1996.
- CHAN, S.-C.; CHANG, Y.-S.; WANG, J.-P.; CHEN, S.-C.; KUO, S.-C. Three new flavonoids and antiallergic, anti-inflammatory constituents from heartwood of *Dalbergia odorifera*. *Planta Med.*, v. 64, p. 153-158, 1998.
- CHANG, L.C.; KINGHORN, A.D. Flavonoids as Cancer Chemopreventive Agents. In TRINGALI, C. (ed.) *Bioactive Compounds from Natural Sources*. London: Taylor & Francis, 2001.
- CHI, Y.S.; CHEON, B.S.; KIM, H.P. Effect of wogonin, a plant flavone from *Scutellaria radix*, on the suppression of cyclooxygenase-2 and the induction of inducible nitric oxide synthase in lipopolysaccharide-treated RAW 264.7 cells. *Biochem. Pharmacol.*, v. 61, p. 1195-1203, 2001.
- CHOUDHURY, R.; SRAI, S.K.; DEBNAM, E.; RICE-EVANS, C.A. Urinary excretion of hydroxycinnamates and flavonoids after oral and intravenous administration. *Free Rad. Biol. Med.*, v. 27, p. 278-286, 1999.
- COSPITE, M. Double-blind, placebo-controlled evaluation of clinical activity and safety of Daflon 500 mg in the treatment of acute hemorrhoids. *Angiology*, v. 45, p. 566-573, 1994.
- COSTA, A.F. *Farmacognosia*. Lisboa: Calouste Gulbenkian, 1972. v. 1, 2 e 3.
- CRITCHFIELD, J.W.; BUTERA, S.T.; FOLKS, T.M. Inhibition of HIV activation in latently infected cells by flavonoids compounds. *AIDS Res. Hum. Retroviruses*, v. 12, p. 39-46, 1996.
- CYPRIANI, B.; LIMASSET, B.; CARRIE, M.L.; LE DOUCEN, C.; ROUSSIE, M.; DE PAULET, A.C.; DAMON, M. Antioxidant activity of micronized diosmin on

- oxygen species from stimulated human neutrophils. *Biochem. Pharmacol.*, v. 45, p. 1531-1535, 1993.
- DOMINGUEZ, X.A. *Métodos de investigación fitoquímica*. México: Limusa, 1973.
- DUWIEJUA, M.; ZEITLIN, I.J. Plants as a source of anti-inflammatory substances. In: HARVEY, A.L. *Drugs from Natural Products: Pharmaceuticals and Agrochemicals*. New York: Ellis Horwood, 1993.
- FERRY, D.R.; SMITH, A.; MALKHANDI, J.; FYFE, D.W.; DE TAKATS, P.G.; ANDERSON, D.; BAKER, J.; KERR, D.J. Phase I clinical trial of the flavonoid quercetin: pharmacokinetics and evidence for *in vivo* tyrosine kinase inhibition. *Clin. Cancer Res.*, v. 2, p. 659-668, 1996.
- FORMICA, J.V.; REGELSOM, W. Review of the biology of quercetin and related bioflavonoids. *Fd. Chem. Toxic.*, v. 33, p. 1061-1080, 1995.
- GARG, A.; GARG, S.; ZANEVELD, L.J.D.; SINGLA, A.K. Chemistry and Pharmacology of the Citrus bioflavonoid hesperidin. *Phytother. Res.*, v. 15, p. 655-669, 2001.
- GUGLER, R.; LESCHIK, M.; DENGLER, H.J. Disposition of quercetin in man after oral and intravenous doses. *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, v. 9, p. 229-34, 1975.
- GUTKIND, G.; NORBEDO, C.; MOLLERACH, M.; FERRARO, G.; DE TORRES, R. Antibacterial activity of *Achyrocline flaccida*. *J. Ethnopharmacol.*, v. 10, p. 319-321, 1984.
- HARAGUCHI, H. Antioxidative Plant Constituents. In: TRINGALI, C. (ed.) *Bioactive Compounds from Natural Sources*. London: Taylor & Francis, 2001.
- HARAGUCHI, H.; ISHIKAWA, H.; MIZUTANI, K.; TAMURA, Y.; KINOSHITA, T. Antioxidative and superoxide scavenging activities of retrochalcones in *Glycyrrhiza inflata*. *Bioorg. Med. Chem.*, v. 6, p. 339-347, 1998.
- HARBORNE, J.B. (ed.). *The flavonoids-advances in research since 1980*. London: Chapman and Hall, 1988.
- _____. *Methods in plant biochemistry. Plant phenolics*. London: Academic, 1989. v. 1.
- HARBORNE, J. B.; WILLIAMS, C. A. Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*, v. 55, p. 481-504, 2000.
- HARBORNE, J.B.; MABRY, T.J. (ed.). *The flavonoids: advances in research*. New York: Chapman and Hall, 1982.
- HARBORNE, J.B.; MABRY, T.J.; MABRY, H. (ed.). *The flavonoids*. New York: Academic, 1975. v. 1 e 2.
- HEO, M.Y.; SOHN, S.J.; AU, W.W. Anti-genotoxicity of galangin as a cancer chemopreventive agent candidate. *Mutat. Res.*, v. 488, p. 135-150, 2001.
- HERTOG, M.G.L.; FESKENS, E.J.M.; HOLLMAN, P.C.H.; KATAN, M.B.K.; KROMHOUT, D. Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen Elderly Study. *Lancet*, v. 342, p. 1007-1011, 1993.
- HUDSON, J.B. *Antiviral compounds from plants*. Florida: CRC, 1990.
- IKAN, R. *A Laboratory guide*. London: Academic, 1991.
- KAUL, T. N.; MIDDLETON Jr., E.; OGRA, P. L. Antiviral effect of flavonoids on human viruses. *J. Med. Virol.*, v. 15, p. 71-79, 1985.
- KELI, S.O.; HERLOG, M.G.L.; FESKENS, E.J.M.; KROMHOUT, D. Dietary flavonoids, antioxidant vitamins, and incidence of stroke. *Arch. Intern. Med.* v. 156, p. 637-41, 1996.
- KITAOKA, M.; KADOKAWA, H.; SUGANO, M.; ICHIKAWA, K.; TAKI, M.;

- TAKAISHI, S.; LIJIMA, Y.; TSUTSUMI, S.; BORIBOON, M.; AKIYAMA, T. Prenylflavonoids: A new class of non-steroidal phytoestrogen (Part I). Isolation of 8-isopentenylnaringenin and an initial study on its structure-activity relationship. *Planta Med.*, v. 64, p. 511-515, 1998.
- KNEKT, P.; JARVINEN, R.; REUNANEN, A.; MAATELA, J. Flavonoid intake and coronary mortality in Finland: a cohort study. *Brit. Med. J.*, v. 312, p. 478-481, 1996.
- KNIGHT, D.C.; EDEN, J.A. Phytoestrogens - a short review. *Maturitas*, v. 22, p. 167-175, 1995.
- LARSON, R.A. The antioxidants of higher plants. *Phytochemistry*, v. 27, p. 969-978, 1988.
- LEE, I.-K.; KIM, C.-J.; SONG, K.-S.; KIM, H.-M.; KOSHINO, H.; URAMOTO, M.; YOO, I.-D. Cytotoxic benzyl dihydroflavonols from *Cudrania tricuspidata*. *Phytochemistry*, v. 41, p. 213-216, 1996.
- LIMA, M.A.; SILVEIRA, E.R.; MARQUES, M.S.; SANTOS, R.H.; GAMBARDELA, M.T. Biologically active flavonoids and terpenoids from *Egletes viscosa*. *Phytochemistry*, v. 41, p. 217-223, 1996.
- MA, S.-C.; BUT, P.P.-H.; OOI, V.E.-C.; HE, Y.-H.; LEE, S.H.-S.; LEE, S.-F.; LIN, R.-C. Antiviral amentoflavone from *Selaginella sinensis*. *Biol. Pharm. Bull.*, v. 24, p. 311-312, 2001.
- MABRY, T.J.; MARKHAM, K.R.; THOMAS, M.B. *The systematic identification of flavonoids*. Berlin: Springer, 1970.
- MANACH, C.; TEIXER, O.; MORAND, C.; CRESPIY, V.; RÉGÉRAT, F.; DEMINGUÉ, C.; RÉMÉSY, C. Comparison of the bioavailability of quercetin and catechin in rats. *Free Rad. Biol. & Medicine*, v. 27, p. 1259-1266, 1999.
- MARTINO, V. Los flavonoides como promisorios agentes preventivos y terapéuticos. *Acta Farm. Bonaerense*, v. 19, p. 303-308, 2000.
- MATA, R.; ROJAS, A.; ACEVEDO, L.; ESTRADA, S.; CALZADA, F.; ROJAS, I.; BYE, R.; LINARES, E. Activity-guided fractionation of the smooth muscle relaxing. *Planta Med.*, v. 63, p. 31-35, 1997.
- MOREL, I.; LESCOAT, G.; COGREL, P.; SERGENT, O.; PASDELOUP, N.; BRISOT, P.; CILLARD, P.; CILLARD, J. Antioxidant and iron-chelating activities of the flavonoids catechin, quercetin and diosmetin on iron-loaded rat hepatocyte cultures. *Biochem. Pharmacol.*, v. 45, p. 13-19, 1993.
- MORONEY, M.-A.; ALCARAZ, M.J.; FORDER, R.A.; CAREY, F.; HOULT, J.R.S. Selectivity of neutrophil 5-lipoxygenase and cyclo-oxygenase inhibition by an anti-inflammatory flavonoid glycoside and related aglycone flavonoids. *J. Pharm. Pharmacol.*, v. 40, p. 787-792, 1988.
- MUCSI, I.; PRAGAI, B.M. Inhibition of virus multiplication and alteration of cyclic AMP level in cell cultures by flavonoids. *Experientia*, v. 41, p. 930-931, 1985.
- OKAMURA, N.; HARAGUCHI, H.; HASHIMOTO, K.; YAGI, A. Flavonoids in *Rosmarinus officinalis* leaves. *Phytochemistry*, v. 37, p. 1463-1466, 1994.
- PARFITT, K. (ed.) *Martindale - The complete drug reference*. 32nd. ed. Tounton: World Color Book Services, 1999.
- PEARCE, F.L.; BEFUS, A.D.; BIENENSTOCK, J. III. Effect of quercetin and other flavonoids on antigen-induced histamine secretion from rat intestinal mast cells. *J. Allergy Clin. Immunol.*, v. 73, p. 819-823, 1984.
- PERRY, N. B.; FOSTER, L.M. Antiviral and antifungal flavonoids, plus a triterpene, from *Hebe cupressoides*. *Planta Med.*, v. 60, p. 491-492, 1994.

- RIBEIRO, A.; PILO-VELOSO, D.; ROMANHA, A.J.; ZANI, C.L. Trypanocidal flavonoids from *Trixis vauthieri*. *J. Nat. Prod.*, v. 60, p. 836-841, 1997.
- SERTIÉ, J.A.A.; BASILE, A.C.; PANIZZA, S.; MATIDA, A.K.; ZELNIK, R. Anti-inflammatory activity and sub-acute toxicity of artemetin. *Planta Med.*, v. 56, p. 36-40, 1990.
- SILVA, G.L.; CHAI, H.; GUPTA, M.P.; FARNSWORTH, N.R.; CORDELL, G.A.; PEZZUTO, J.M.; BEECHER, C.W.W.; KINGHORN, D. Cytotoxic biflavonoids from *Selaginella willdenowii*. *Phytochemistry*, v. 40, p. 129-134, 1995.
- SIMÕES, C.M.O.; MENTZ, L.A.; SCHENKEL, E.P.; IRGANG, B.E.; STEHMANN, J.R. *Plantas da medicina popular no Rio Grande do Sul*. 5. ed. Porto Alegre: Ed. Universidade/UFRGS, 1996.
- SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; BAUER, L.; LANGELOH, A. Pharmacological investigations on *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC., Compositae. *J. Ethnopharmacol.*, v. 22, p. 281-293, 1988.
- TAN, G.T.; PEZZUTO, J.M.; KINGHORN, A.D. Screening of natural products as HIV-1 and HIV-2 reverse transcriptase (RT) inhibitors. In: CHU, C.K.; CUTLER, H.G. *Natural products as antiviral agents*. New York: Plenum, 1992. p. 195-222.
- TRUEBA, G.P.; SANCHEZ, G.M. Los flavonóides como antioxidantes naturales. *Acta Farm. Bonaerense*, v. 20, p. 297-306, 2001.
- TYLER, V.E.; BRADY, L.R.; ROBBERS, J.E. *Pharmacognosy*. 9th. ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1988.
- VAN ACKER, S.A.B.E.; VAN DEN BERG, D.-J.; TROMP, M.N.J.L.; GRIFFIOEN, D.H.; VAN BENNEKOM, W.P.; VAN DER VIJGH, W.J.F.; BAST, A. Structural aspects of antioxidant activity of flavonoids. *Free Rad. Biol & Medicine*, v. 20, p. 331-342, 1996.
- VRUSEN, R.; ROMBAUT, B.; VAN HOOFF, L.; VANDEN BERGHE, D.A.; BOEYÉ, A. 3-methylquercetin, an inhibitor of the early stages of poliovirus replication. *Arch. Internat. Physiol. Biochem.*, v. 92, p. B113-114, 1984.
- WALGREN, R.A.; WALLE, U.K.; WALLE, T. Transport of quercetin and its glucosides across human intestinal epithelial Caco-2 cells. *Biochem. Pharmacol.* v. 55, p. 1721-1727, 1998.
- WOERDENBAG, H.J.; MERFORT, I.; PASSREITER, C.M.; SCHMIDT, T.J.; WILLUHN, W.V.U.; PRAS, N.; UDEN, W.V.; KAMPINGA, H.H.; KONINGS, A.W.T. Cytotoxicity of flavonoids and sesquiterpene lactones from *Arnica* species against the GLC4 and COLO 320 cell lines. *Planta Med.*, v. 60, p. 434-437, 1994.

21. SUGESTÕES PARA LEITURA

- BRUNETON, J. Flavonóides. In: *Pharmacognosie – Phytochimie, plantes médicinales*. 2^{ème} ed. Paris: Lavoisier, 1993.
- GARG, A.; GARG, S.; ZANEVELD, L.J.D.; SINGLA, A.K. Chemistry and Pharmacology of the Citrus bioflavonoid hesperidin. *Phytother. Res.*, v. 15, p. 655-669, 2001.
- HARBORNE, J.B. (ed.) *The Flavonoids- Advances in Research since 1980*. London: Chapman and Hall, 1988.
- HARBORNE, J.B. (ed.) *Methods in plant biochemistry. Plant Phenolics*. London: Academic, 1989. v. 1.

- HARBORNE, J.B.; MABRY, T.J. (ed.) *The Flavonoids: Advances in Research*. New York: Chapman and Hall, 1982.
- HARBORNE, J.B.; MABRY, T.J.; MABRY, H. (ed.) *The Flavonoids*. New York: Academic, 1975. v. 1 e 2.
- HARBORNE, J. B.; WILLIAMS, C. A. Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*, v. 55, p. 481-504, 2000.
- INKAN, R.A. *A Laboratory Guide*. London: Academic, 1991.
- MABRY, T.J.; MARKHAM, K.R.; THOMAS, M.B. (ed.) *The systematic identification of flavonoids*. Berlin: Springer, 1970.
- TYLER, V.E.; BRADY, L.R.; ROBBERS, J.E. *Pharmacognosy*. 9th. ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1988.
- TRINGALI, C. *Bioactive compounds from natural sources*. 1st. ed. London: Taylor & Francis, 2001.

AGRADECIMENTOS

À colaboração da doutora em Ciências Farmacêuticas Renata Pereira Limberger no auxílio de pesquisa deste capítulo.

TANINOS

AUTORES

Suzana da Costa Santos
João Carlos Palazzo de Mello

SUMÁRIO DO CAPÍTULO

1. Introdução
2. Terminologia e classificação
3. Biogênese
4. Ocorrência
5. Atividades farmacológicas e biológicas
6. Complexação entre taninos e proteínas
7. Emprego industrial e outros
8. Isolamento, purificação e elucidação estrutural
9. Métodos de análise
10. Drogas vegetais clássicas
11. Referências bibliográficas
12. Sugestões para leitura

1. INTRODUÇÃO

Historicamente, a importância das plantas ricas em taninos está ligada às suas propriedades de transformar a pele animal em couro. Atualmente, o curtimento de peles também é industrialmente conseguido com compostos minerais, entretanto, por vários milênios esse processo requeria exclusivamente o uso de plantas taníferas. Durante o curtimento são formadas ligações entre as fibras de colágeno na pele animal, a qual adquire resistência ao calor, água e abrasivos. Esta capacidade dos taninos em combinar-se com macromoléculas explica a capacidade deles precipitarem celulose, pectinas e proteínas. Essas propriedades são a base da definição clássica dos taninos: substâncias fenólicas solúveis em água com massa molecular entre 500 e cerca de 3000 Dalton, as quais apresentam a habilidade de formar complexos insolúveis em água com alcalóides, gelatina e outras proteínas.

Estes compostos são particularmente importantes componentes gustativos, sendo responsáveis pela adstringência de muitos frutos e produtos vegetais. A complexação entre taninos e proteínas é a base para suas propriedades como fatores de controle de insetos, fungos e bactérias tanto quanto para suas atividades farmacológicas.

2. TERMINOLOGIA E CLASSIFICAÇÃO

Tradicionalmente os taninos são classificados segundo sua estrutura química em dois grupos: taninos hidrolisáveis e taninos condensados.

Os taninos hidrolisáveis são caracterizados por um poliol central, geralmente β -D-glicose, cujas funções hidroxilas são esterificadas com o ácido gálico. O composto β -1,2,3,4,6-pentagaloil-D-glicose (fig. 1) representa o padrão máximo de substituição alcançado, sendo considerado o precursor imediato para ambas as classes de taninos hidrolisáveis (galotaninos e elagitaninos).

Os galotaninos resultam da união entre unidades de ácido gálico via ligações denominadas *meta*-depsídicas (fig. 1). O grau de substituição total de 10 a 12 resíduos de ácido gálico por molécula de glicose pode ser alcançado, como relatado para galotaninos em *Rhus semialata* Murray (China), em *Quercus infectoria* Oliv. ou a poligaloilglicose em *Paeonia* sp.

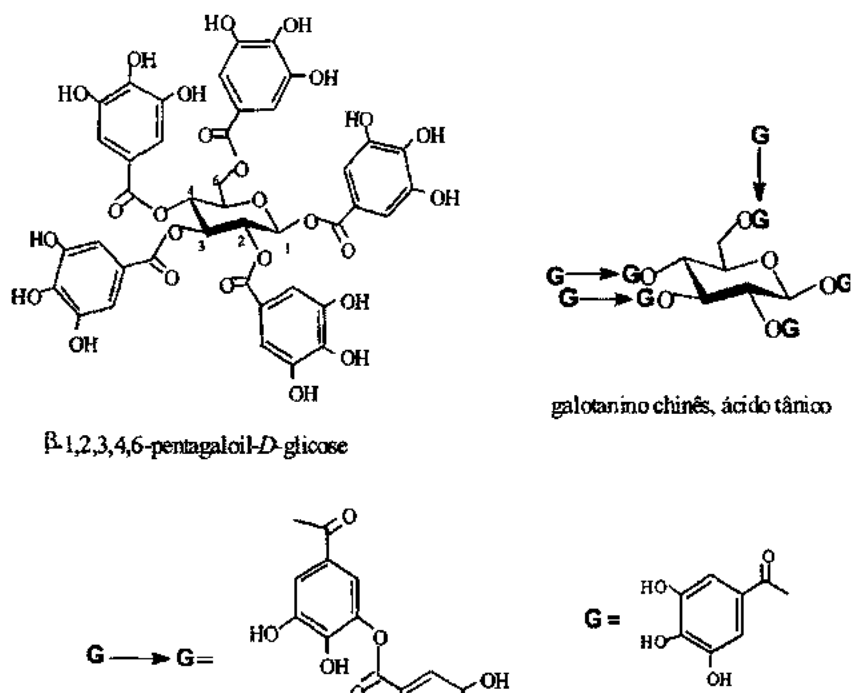


Figura 1. Exemplos de éster do ácido gálico e galotanino

Os elagitaninos possuem um ou dois resíduos de hexa-hidróxi-difenoil-D-glicose (HHDP) de configuração (*R*) ou (*S*), os quais são obtidos pelo acoplamento oxidativo C-C entre dois resíduos de ácido gálico espacialmente adjacentes. Após hidrólise ácida das ligações éster, ocorre a liberação do

ácido difênico, que se rearranja espontaneamente para o ácido elágico. A degradação da casuarictina (1-O-galoil-2,3-4,6-di-O-hexa-hidróxi-difenoil-D-glicose) é mostrada na figura 2.

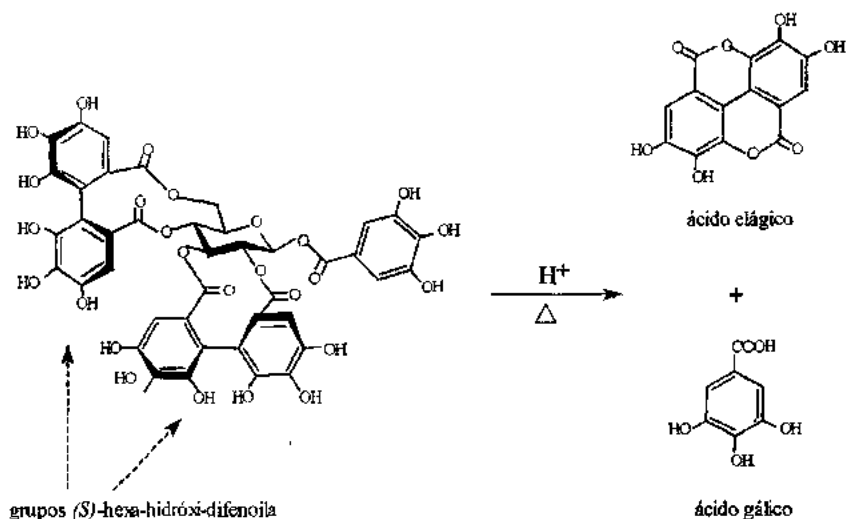


Figura 2. Degradação em meio ácido da casuarictina

Os elagitaninos isolados até o presente são monômeros, dímeros, trímeros e tetrâmeros. Os monômeros são classificados em três grupos, de acordo com a estrutura espacial da glicose presente na molécula. No primeiro grupo, a glicose está na conformação de cadeia com os substituintes em posição equatorial; no segundo, os substituintes estão em posição axial e, no terceiro, a molécula de glicose está na forma de uma cadeia aberta. Estes últimos são conhecidos como elagitaninos C-glicosídicos. Estudos realizados por Nonaka et al. (1985) com *Quercus stenophylla* Makino (noz-de-galha ou bugalho) e Okuda et al. (1987) com *Psidium guajava* L. (goiabeira) demonstraram a presença de um quarto grupo de elagitaninos. Nesse grupo, os elagitaninos C-glicosídicos se ligam a uma unidade de tanino condensado formando os chamados “taninos complexos”. Na figura 3 são mostrados exemplos dos quatro tipos de elagitaninos monoméricos.

Os taninos hidrolisáveis oligômeros são formados pela condensação de unidades monoméricas, usualmente elagitaninos, que se interconectam através de diferentes unidades ligantes. Esses oligômeros são classificados, de acordo com as unidades ligantes entre os monômeros, em três grupos (Okuda et al., 1993). Os tipos mais comuns de unidades ligantes são: (1) o grupo valoneoila - produto do acoplamento oxidativo entre o oxigênio do HHDP de um monômero e o carbono do ácido gálico de um outro monômero; (2) o gru-

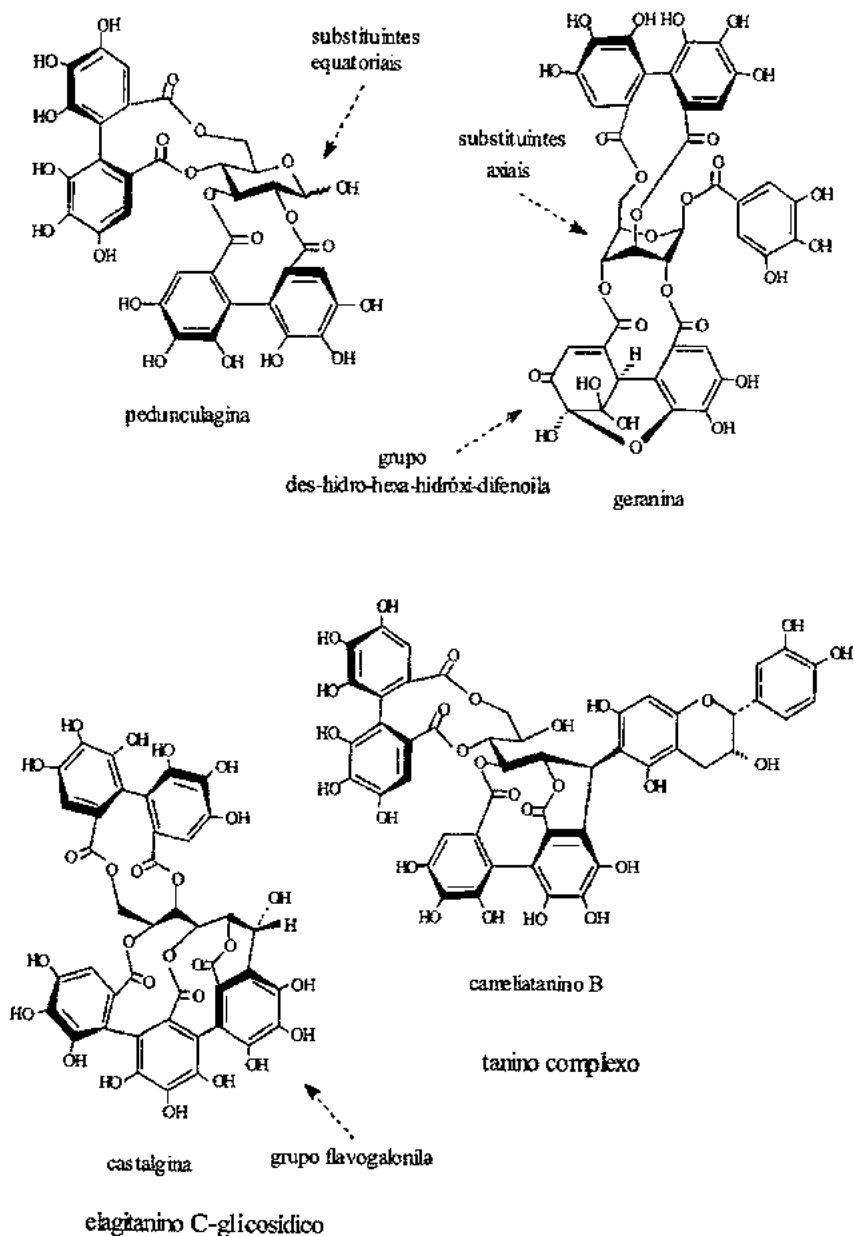


Figura 3. Exemplos de elagitaninos monoméricos

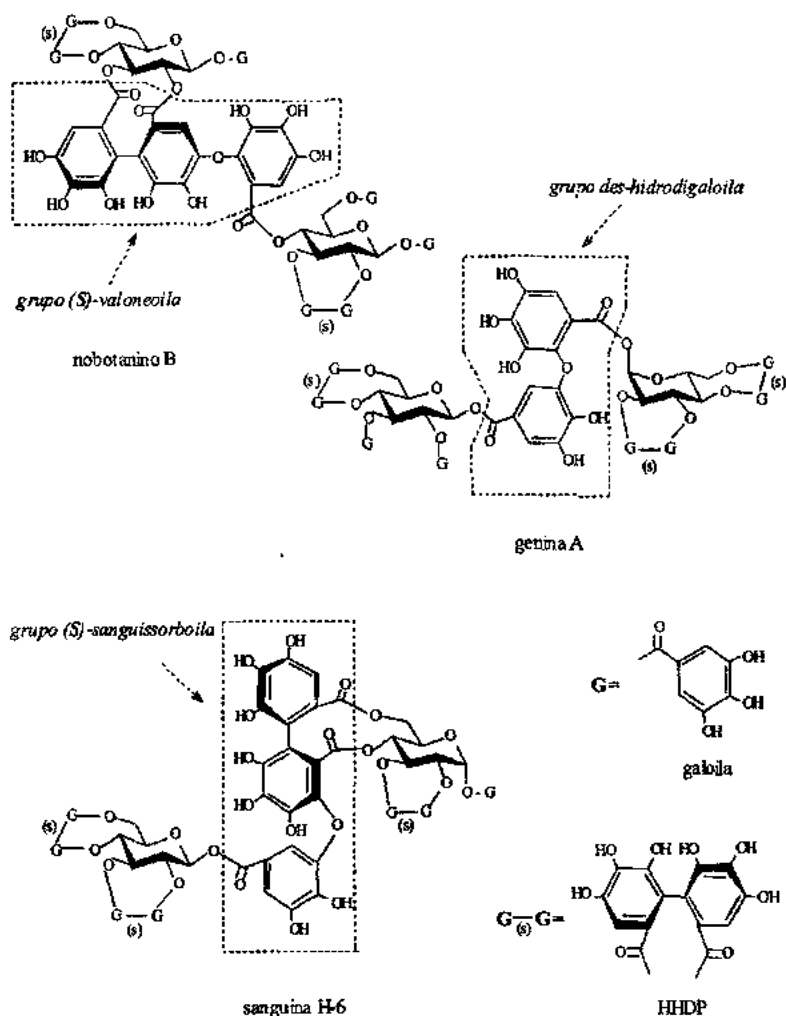


Figura 4. Exemplos de elagitaninos diméricos com diferentes unidades ligantes

po desidrodigaloila – no qual o acoplamento oxidativo é entre dois grupos ácido gálico e (3) o grupo sanguissorboila - produto da condensação entre o éster HHDP e o ácido sanguinossórbico. Os exemplos típicos são: nobotanino B, genina A e sanguina H-6 apresentados na figura 4.

Elagitaninos oligoméricos com estruturas macrocíclicas têm sido isolados de espécies de *Oenothera*, como é o caso de oenoteínas A e B (Hatano et al., 1990; Yoshida et al., 1991). Taniguchi e col. (2002) isolaram um novo ela-

gitanino trimérico macrocíclico de *Oenothera tetraptera* Cav., como sendo o constituinte principal, a oenoterina T₁ (fig. 5).

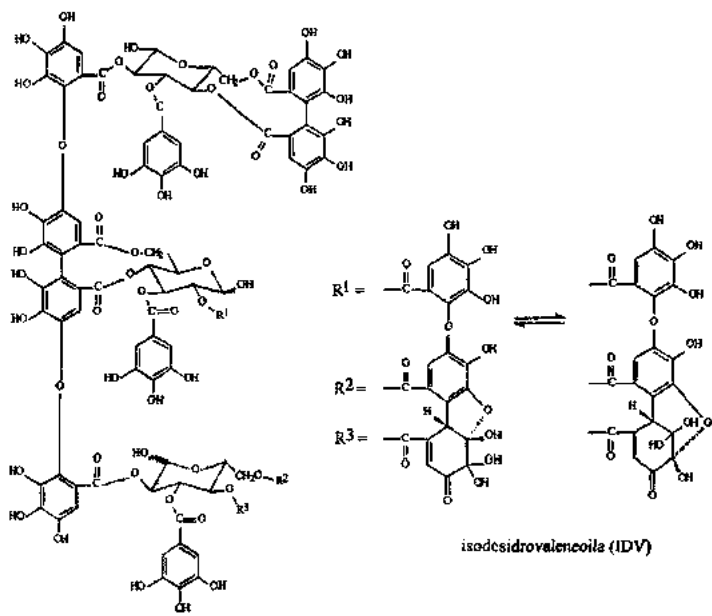


Figura 5, Elagitanino trimérico macrocíclico, oenoterina T₁

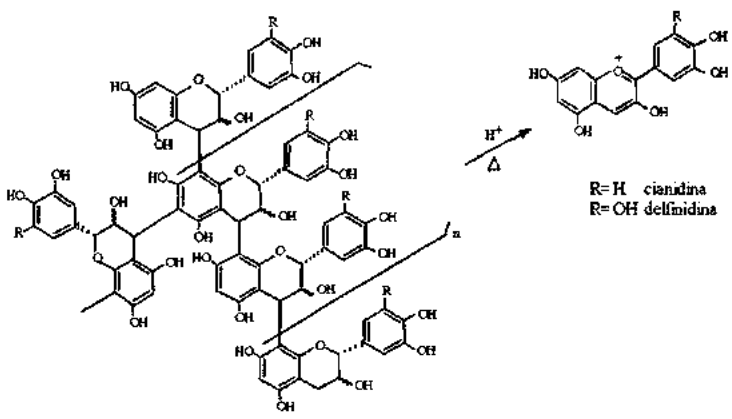


Figura 6. Degradação de proantocianidinas catalisada por ácido mineral

Os taninos condensados são oligômeros e polímeros formados pela poli-condensação de duas ou mais unidades flavan-3-ol e flavan-3,4-diol. Essa classe de taninos também é denominada como proantocianidina (Freudentberg e Weinges, 1958 e 1960) devido ao fato de os taninos condensados produzirem pigmentos avermelhados da classe das antocianidinas, tais como cianidina e delphinidina, após degradação com ácido mineral diluído à quente (fig. 6).

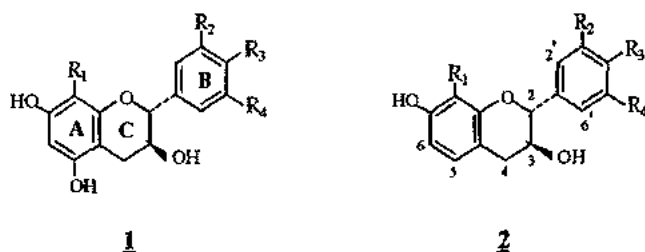


Figura 7. Monômeros básicos de taninos condensados

Os taninos condensados podem ser divididos em dois tipos face à presença ou ausência de hidroxila na posição C-5 do anel A (Porter, 1989b; Hemingway, 1989) (fig. 7, tab. 1).

TABELA 1

Taninos condensados de acordo com o grau de hidroxilação nos anéis A e B dos monômeros básicos.

Tipo	Proantocianidina	Monômero		Substituinte		
		Nome Trivial	R1	R2	R3	R4
1	prodistenidina	distenina	H	H	H	H
	propetargonidina	afzelequina	H	H	OH	H
	procianidina	catequina	H	OH	OH	H
	prodelphinidina	galocatequina	H	OH	OH	OH
2	proguibourtinidina	guibourtinidol	H	H	OH	H
	profisetinidina	fisetinidol	H	OH	OH	H
	prorobinetidinina	robinetidinol	H	OH	OH	OH
	proteracacinidina	oritina	OH	H	OH	H
	promelacacianidina	mesquitol	OH	OH	OH	H

OBS: O tipo 2 foi encontrado, até o momento, somente em Fabaceae e Anacardiaceae (Porter, 1989b; Hemingway, 1989). Fisetinidol foi isolado, também, em duas espécies de *Virola* (Myristicaceae) (Kijjoa et al., 1981).

A nomenclatura trivial dos flavan-3-óis e proantocianidinas deriva originalmente de Weinges et al. (1968a e 1968b) e de Thompson et al. (1972). Os dímeros de procianidinas foram caracterizados através do nome trivial e divididos em dois grupos, designados por A ($C_{30}H_{24}O_{12}$) e B ($C_{30}H_{26}O_{12}$). Procianidinas do grupo B são aquelas que possuem uma ligação carbono-carbono entre C-4 da unidade "superior" e o C-8 ou C-6 da unidade "inferior", enquanto que os representantes do grupo A possuem complementarmente uma ligação do tipo éter (fig. 8). Proantocianidinas glicosiladas, dímeros e trímeros do tipo A, foram, recentemente isoladas e identificadas a partir de licor de sementes de cacau (*Theobroma cacao* L., Sterculiaceae) (fig. 9) (Hatano et al., 2002). Além desses compostos, um novo dímero com ligação rara do tipo C-4(C)→C-5(D) [oritina-(4 α →5)epioritina-4 β -ol] foi isolado de *Acacia galepinii* Burt Davy e de *Acacia caffra* (Thunb.) Willd. (fig. 10) (Bennie et al., 2002).

Essa nomenclatura trivial assim como o uso da nomenclatura sistemática IUPAC não se mostra prática para substâncias muito complexas. De uma maneira geral, aceita-se a nomenclatura proposta por Hemingway et al. (1982), na qual os nomes são formados a partir da estrutura básica dos flavan-3-óis. A estereoquímica usual dos flavan-3-óis no carbono 2 é *R*; em substância com a configuração 2*S* aplica-se ao nome trivial o prefixo *enantio*, grafado como *ent*. Assim, (+)-catequina é denominada de catequina e (-)-catequina como *ent*-catequina, respectivamente. Nos dímeros, trímeros e oligômeros superiores, para descrever as ligações entre os monômeros, é utilizada nomenclatura análoga à dos açúcares, em que a

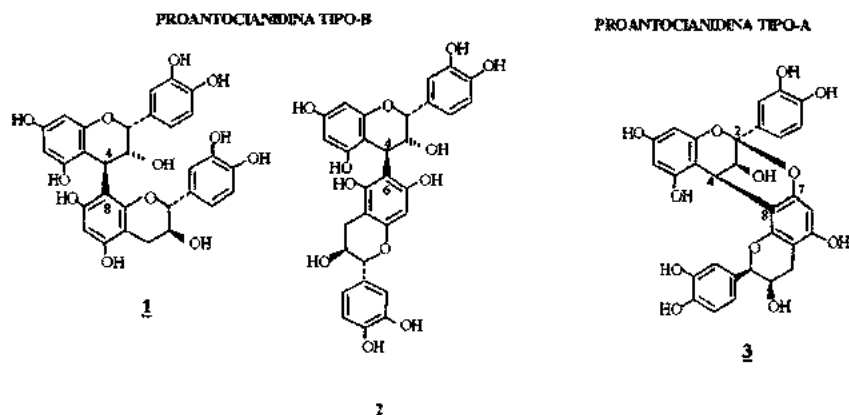


Figura 8. Estruturas exemplos de proantocianidinas diméricas
(1: epicatequina-(4 β →8)-catequina; 2: epicatequina-(4 β →6)-catequina;
3: robinetidinol-(2 β →7;4 β →8)-epicatequina)

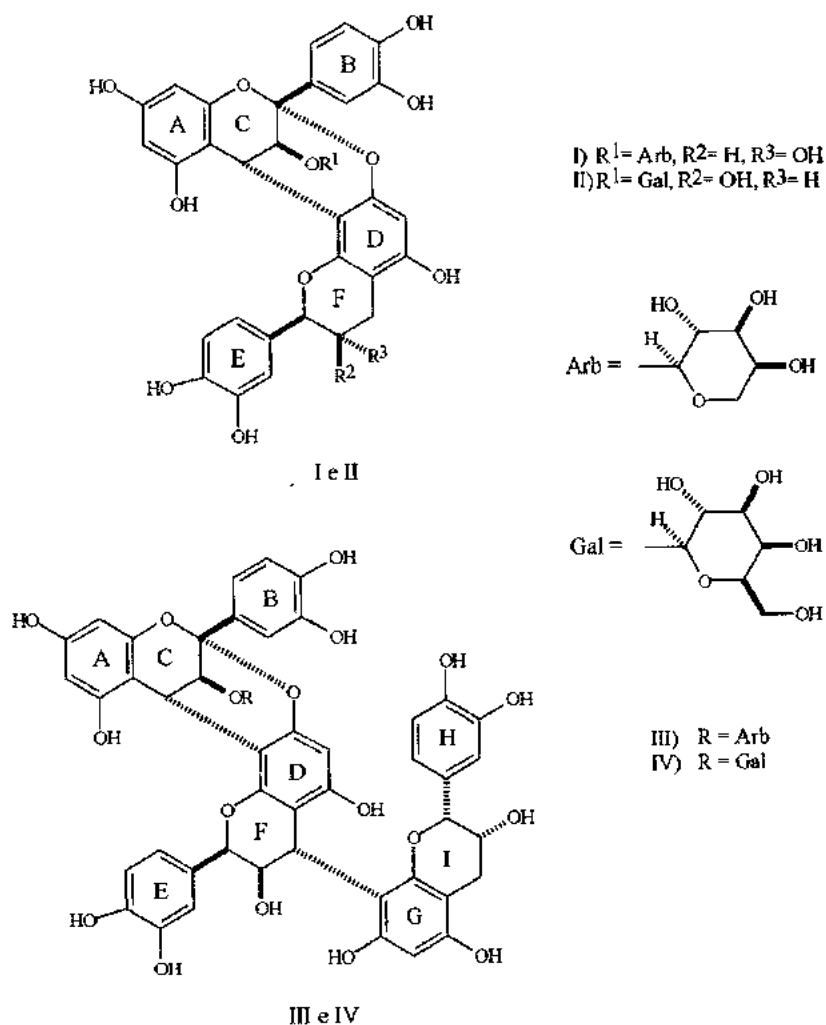


Figura 9. Proantocianidinas glicosiladas diméricas e triméricas

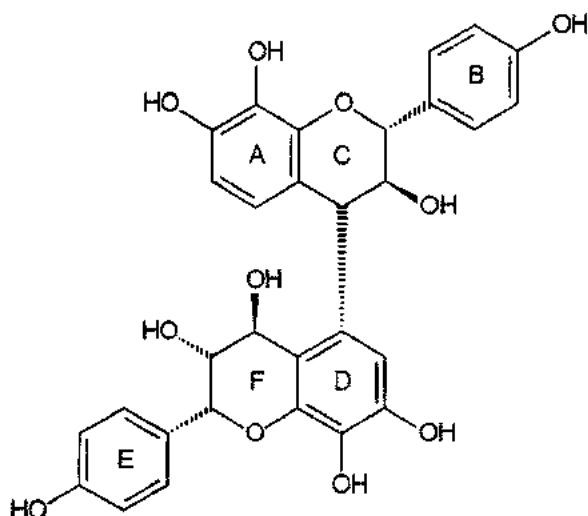


Figura 16. Dímero com ligação rara do tipo C-4(C)→C-5(D), [oritina-(4 α →5)-epioritina-4 β -ol]

posição da ligação e a disposição espacial da ligação são escritas entre parênteses. A configuração das ligações entre os monômeros no C4 é indicada pela nomenclatura α ou β , evitando-se, assim, um parêntese extra e a ambigüidade do sistema *RS*.

Vem de Porter (1988) também a nomenclatura de proantocianidina do tipo A, a qual foi rediscutida por Kolodziej et al. (1993).

Dois artigos de revisão podem ser consultados para maiores detalhes sobre proantocianidinas (Ferreira e Bekker, 1996; Ferreira e Li, 2000).

Algumas estruturas exemplos de proantocianidinas diméricas, com sua respectiva nomenclatura, podem ser vistas na figura 8.

3. BIOGÊNESE

3.1. Taninos Hidrolisáveis

3.1.1. Biogênese do ácido gálico

É geralmente aceito que os ácidos benzóicos são derivados dos correspondentes ácidos cinâmicos, com o mesmo padrão de substituição do anel aromático, por remoção de uma unidade de acetato da cadeia lateral acrílica. O mecanismo exato dessa reação, entretanto, é ainda questionável. Tem sido proposto que o ácido gálico [ácido 3,4,5-tri-hidróxi-benzóico] deva ser formado pela seguinte sequência (rota a): L-fenilalanina $\rightarrow$ ácido caféico $\rightarrow$ ácido 3,4,5-tri-hidróxi-cinâmico $\rightarrow$ ácido gálico. Uma objeção importante para tal proposição é o fato do precursor sugerido, ácido tri-hidróxi-cinâmico, nunca ter sido encontrado na natureza e considerado, assim, ocasionalmente, como um “ácido ausente”. Numa variação dessa via (rota b), a etapa de degradação da cadeia lateral foi simulada numa etapa posterior, resultando na sequência: L-fenilalanina $\rightarrow$ ácido caféico $\rightarrow$ ácido protocatequico $\rightarrow$ ácido gálico. Como resultado de experimentos com o fungo *Phycomyces* e várias plantas (ex. dos gêneros *Geranium*, *Rhus*), outros autores concluíram, de forma muito diferente, através de uma terceira rota (c), para a qual foi postulada a aromatização direta do ácido 3-des-hidrochiquímico. As três rotas propostas podem ser visualizadas na figura 11.

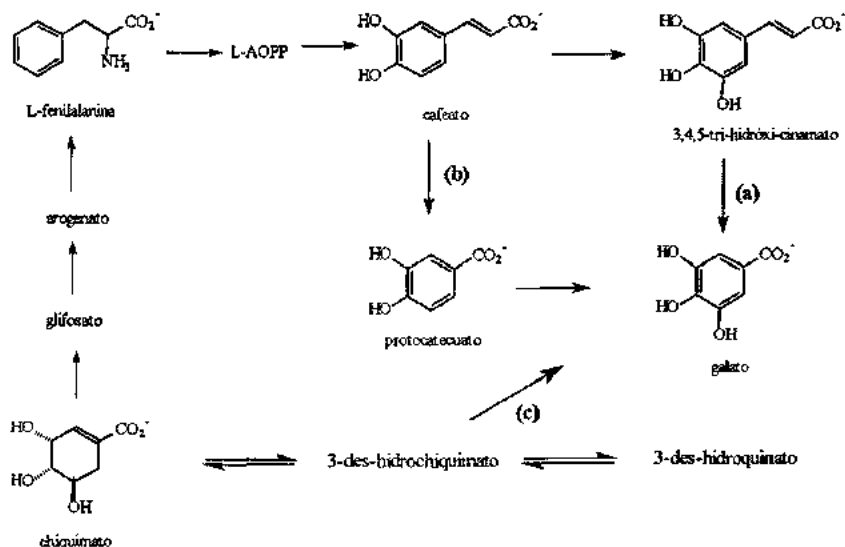


Figura 11. Propostas de rotas biogênicas para o ácido gálico segundo Gross (1992)

3.1.2. Biogênese de galotaninos e elagitaninos

As rotas biossintéticas que levam à formação de galotaninos e elagitaninos possivelmente envolvem transformações oxidativas do precursor β -1,2,3,4,6-pentagaloil-D-glicose. Esse precursor, por sua vez, é formado via intermediário β -glicocalina (β -1-O-galoila-D-glicose), que é produzido pela reação do ácido gálico com UDP-glicose. A β -glicocalina é o principal doador de grupos do ácido gálico na biogênese de galoil-ésteres e de galotaninos.

Três rotas biogenéticas, começando pelo precursor pentagaloil-glicose, foram propostas por Beart et al. (1985) (fig. 12). A rota 1 conduz à formação de galotaninos pela adição de grupos galoila que se interconectam através de ligações *meta*-depsídicas (fig. 1).

A rota 2 leva à formação de elagitaninos com a glicose na conformação de cadeira mais estável. Duas moléculas de ácido gálico vizinhas condensam-se por acoplamento oxidativo produzindo o grupo deidro-hexa-hidróxi-difenila como em telimagrandina II. Através da condensação de mais dois grupos galoila é produzido outro elagitanino, a casuarictina. Esses compostos podem se ligar a outros monômeros gerando dímeros, trímeros e oligômeros. Além disso, esses compostos podem sofrer hidrólise enzimática na ligação éster na posição C-1, produzindo compostos com a hidroxila livre no carbono anomérico, por exemplo telimagrandina I e pedunculagina.

Os elagitaninos C-glicosídicos, como a casuarina, são possivelmente biossintetizados a partir da pedunculagina. O mecanismo é ainda desconhecido, mas Okuda et al. (1989) isolaram o composto aldeídico, liquidambina, que é considerado o intermediário na biogênese de elagitaninos de cadeia aberta. Esses elagitaninos também se condensam, formando oligômeros. Entretanto, a ligação entre os monômeros é via C-C ao invés de C-O como nos outros tipos.

A rota biogenética 3 leva à formação dos elagitaninos, empregando glicose na conformação de cadeira com os substituintes em posição axial, como, por exemplo, na geranina (fig. 3). Os grupos HHDP são formados pelo acoplamento oxidativo entre grupos ácido gálico nas posições C-3 para C-6, C-1 para C-6 ou C-2 para C-4. Essa classe de compostos é caracterizada pela presença do grupo éster deidroexaidroxidifenila e seus derivados. Tais compostos também sofrem condensação através de ligações intermoleculares C-O, gerando, assim, oligômeros.

3.2. Taninos Condensados

Di-hidroflavonóis são os substratos diretos para a abundante classe de flavonóis e para a formação de flavan-3,4-dióis, que são conhecidos como leucoantocianidinas. Através da redução de di-hidroflavonóis na posição 4, catalizada pela di-hidroflavonol-4-redutase, formam-se primeiramente os flavan-2,3-*trans*-3,4-*cis*-dióis (ex. leucopelargonidina), os quais são inter-

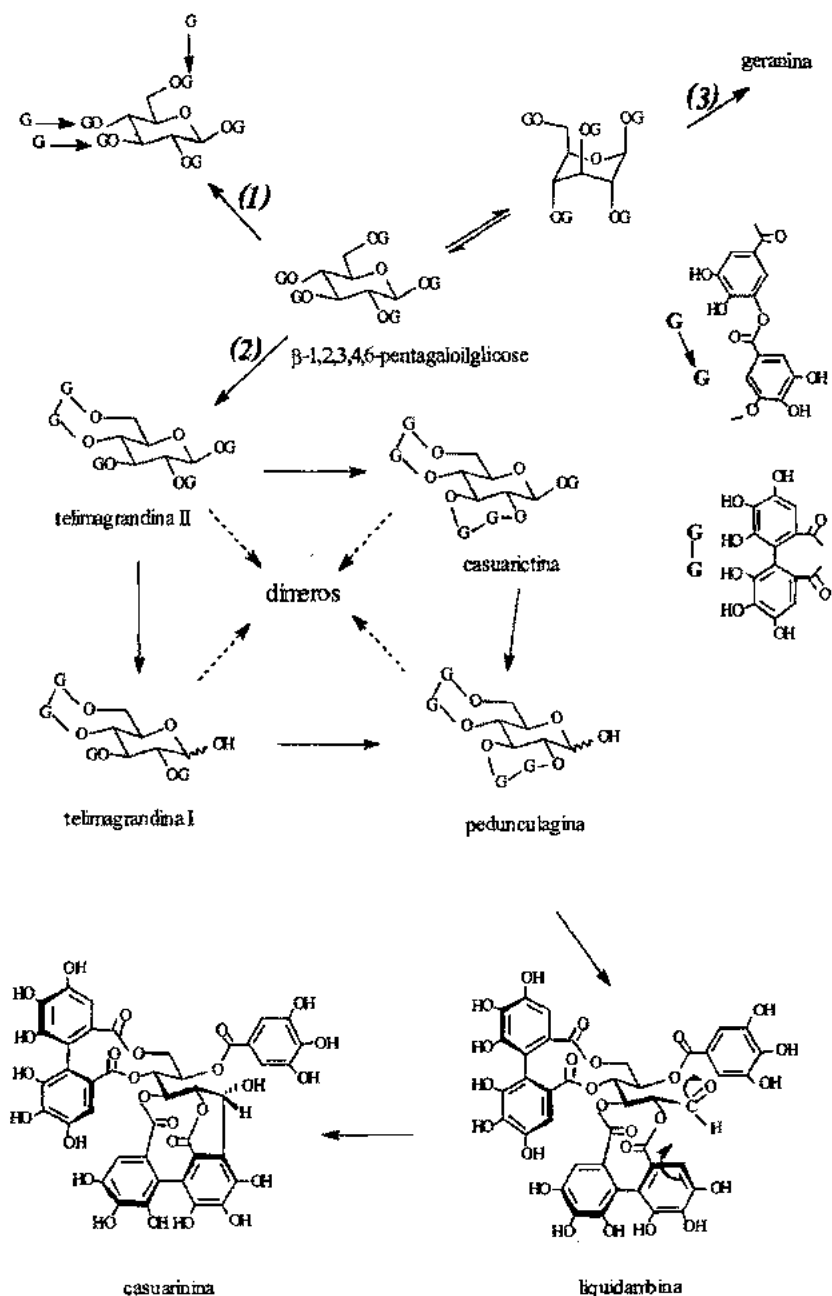


Figura 12. Biogênese de galotaninos e elagitanninos

mediários na formação de catequinas, proantocianidinas e antocianidinas. Catequinas (ex. afzelequina) são sintetizadas a partir das leucoantocianidinas para, posteriormente, sofrerem redução na posição C-4. Essa reação é catalizada pela flavan-3,4-cis-diol-redutase. Proantocianidina (ex. propelar-gonidina B-3) provavelmente é originada a partir de leucoantocianidinas e catequinas por uma reação de condensação. A enzima catalizadora dessa reação, entretanto, ainda não é conhecida. Esquema simplificado da biogênese de taninos condensados pode ser visto na figura 13.

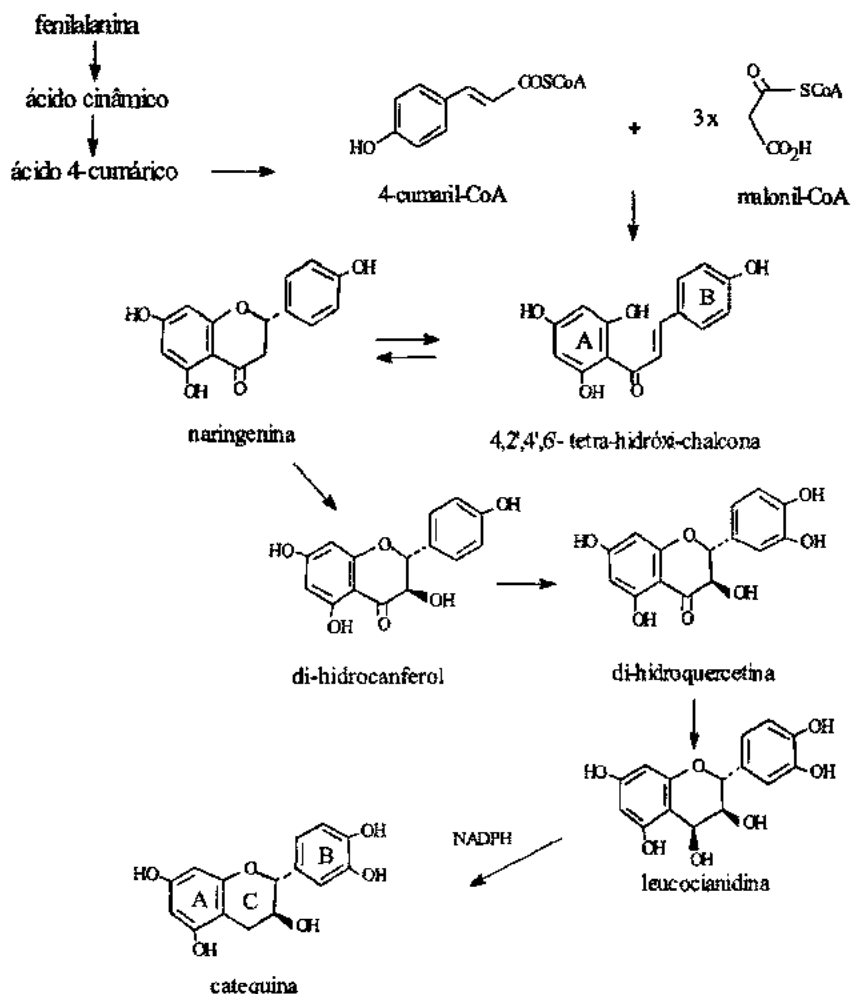


Figura 13. Esquema simplificado da biogênese de taninos condensados

4. OCORRÊNCIA

Taninos condensados e hidrolisáveis se distribuem no reino vegetal seguindo padrões significativamente diferentes. Enquanto as proantocianidinas ocorrem amplamente em Gymnospermae e Angiospermae, os taninos hidrolisáveis estão quase restritos às Choripetalae das dicotiledôneas e não foram encontrados nas Simpetales.

Os taninos condensados em geral estão amplamente distribuídos em plantas lenhosas. Já os taninos hidrolisáveis ocorrem em dicotiledôneas herbáceas e lenhosas, porém dentro de limites taxonômicos bem definidos. Os elagitânicos têm sido utilizados como marcadores taxonômicos devido a sua distribuição no complexo HDR, Hamamelidae, Dileniidae e Rosidae (Haslam e Cai, 1994). Sua distribuição dentro das famílias do complexo HDR foi revista pelo grupo de Okuda et al. (1993). Uma revisão da distribuição sistemática de taninos em angiospermas foi realizada por Mole (1993), utilizando dados baseados em testes de precipitação de proteínas.

5. ATIVIDADES FARMACOLÓGICAS E BIOLÓGICAS

Plantas ricas em taninos são empregadas na medicina tradicional no tratamento de diversas moléstias, tais como diarreia, hipertensão arterial, reumatismo, hemorragias, feridas, queimaduras, problemas estomacais (azia, náusea, gastrite e úlcera gástrica), problemas renais e do sistema urinário e processos inflamatórios em geral (Haslam, 1996; De Bruyne et al., 1999a; Dufresne e Farnworth, 2001).

Testes *in vitro* realizados com extratos ricos em taninos ou com taninos puros têm identificado diversas atividades biológicas dessa classe de substâncias. Dentre essas se podem citar: ação bactericida e fungicida (Scalbert, 1991; Chung et al., 1998), antiviral (Okuda et al., 1993; De Bruyne et al., 1999b), moluscicida (Marston e Hostettmann, 1985), inibição de enzimas como glicosiltransferases de *Streptococcus mutans* e *Streptococcus sobrinus* (Hattori et al., 1990 e Ooshima et al., 1993), inibição da peroxidação de lipídeos e sequestrador de radicais livres (Hagerman et al., 1998a; Moure et al., 2001) e ação antitumoral (Wang et al., 1999; Dufresne e Farnworth, 2001).

Acredita-se que as atividades farmacológicas dos taninos são devidas, pelo menos em parte, a três características gerais que são comuns em maior ou menor grau aos dois grupos de taninos, condensados e hidrolisáveis: 1) complexação com íons metálicos (ferro, manganês, vanádio, cobre, alumínio, cálcio, entre outros), 2) atividade antioxidante e sequestradora de radicais livres e 3) habilidade de complexar com outras moléculas incluindo macromoléculas tais como proteínas e polissacarídeos. Foi sugerido que os possíveis modos de ação dos taninos no tratamento de doenças estão intimamente ligados a essas três propriedades (Haslam, 1996 e 1998). Apesar das característi-

cas em comum, os taninos podem atuar de forma seletiva como foi comprovado em estudo realizado com 20 compostos puros e 16 receptores, onde alguns se ligaram especificamente a certos receptores (Zhu et al., 1997).

Os taninos ajudam no processo de cura de feridas, queimaduras e inflamações através da formação de uma camada protetora (complexo tanino-proteína e/ou polissacarídeo) sobre a pele ou mucosa danificada., ocorrendo, abaixo desta, o processo natural de cura (reestruturação do epitélio e formação de vasos). Processo similar ocorre provavelmente em casos de úlcera gástrica, em que uma camada de tanino-proteína complexados protege a mucosa do estômago (Haslam, 1998; Audi et al., 1999).

Testes *in vitro* mostraram que taninos inibiram praticamente todas as enzimas testadas. Tal fato se deve à propriedade dos taninos de se ligar às proteínas. Esse efeito *in vitro* pode ser extrapolado para enzimas extracelulares como a glicosiltransferase, que é produzida por duas bactérias, *Streptococcus mutans* e *Streptococcus sobrinus*, encontradas na cavidade bucal do homem. Essa enzima catalisa a formação de dextranas, que se sedimentam sobre os dentes e, com isso, facilitam a adesão das bactérias à superfície lisa dos dentes. Placas são os pressupostos para a formação de cáries e podem também proporcionar a formação de inflamação da gengiva (gengivite). O efeito da inativação da glicosiltransferase pelos taninos bloqueia a formação da placa dental e de inflamações na região bucal e na garganta (Nakahara et al., 1993). A inibição do crescimento e aderência celular de *Porphyromonas gingivalis*, bactéria responsável pela maioria dos casos de periodontite em adultos, foi relatada para os polifenóis do chá-verde (*green tea*) *Camelia sinensis* (L.) Kuntze (Sakanaka et al., 1996).

Elagitânicos e proantocianidinas das cascas de *Anacardium occidentale* L. atuam como anti-inflamatórios, bloqueando a hialuronidase ativada e/ou a degranulação de mastócitos de ratos. Experimentos em patas de ratos mostraram que existe um efeito pronunciado antiedematogênico dessa mistura de taninos (Scholz, 1994).

Várias doenças degenerativas como câncer, esclerose múltipla, aterosclerose e o próprio processo de envelhecimento, estão associadas a altas concentrações intercelulares de espécies oxigenadas reativas ou de radicais livres. Estudos recentes mostram que vários taninos atuam como captadores de radicais, os quais interceptam o oxigênio ativo formando radicais estáveis, como, por exemplo, nas seguintes situações: o bloqueio da peroxidação de lipídeos em mitocôndrias hepáticas; o bloqueio da lipoxigenase em leucócitos; o bloqueio da xantinoxidase e a repressão da formação de radicais de ânion superóxido assim como dos radicais 1,1-difenil-2-picril-hidrazila (DPPH). Dessa forma, os taninos teriam uma possível importância na prevenção e tratamento de doenças causadas pela peroxidação de lipídeos (Moure et al., 2001).

Outros estudos mostraram que os taninos têm efeitos inibitórios sobre

bactérias e fungos (Waage et al., 1984; Marwan e Nagel, 1986; Scalbert, 1991). Existem três hipóteses para o mecanismo de ação antimicrobiana. A primeira hipótese pressupõe a inibição das enzimas de bactérias e fungos e/ou a complexação dos substratos dessas enzimas; a segunda seria a ação dos taninos sobre as membranas celulares dos microorganismos, modificando o seu metabolismo. Finalmente, a terceira hipótese menciona a complexação dos taninos com íons metálicos (Mila et al., 1996), diminuindo, assim, a disponibilidade destes elementos essenciais para o metabolismo dos microorganismos.

Outros estudos estão relacionados com a ação sobre bactérias que podem causar cistite e pielonefrite. Nestes casos foram utilizados taninos condensados (tipo A – epicatequina-(4 β →6)-epicatequina-(4 β →8;2 β →O→7)-epicatequina e outras). Essas substâncias apresentaram atividade de antiaderência determinada por eritrócitos humanos e supressão da aglutinação da camada de resina em receptor do tipo P quando incubados com *Escherichia coli* com fimbria do tipo P (manose-resistente) (Foo et al., 2000).

Vários ensaios *in vitro* foram realizados com taninos hidrolisáveis e condensados relacionados com a atividade antiviral. O mecanismo de ação dessa atividade, normalmente, é devida à ligação das moléculas de taninos com as proteínas do capsídeo do vírus ou, com a membrana da célula hospedeira. Assim, a adsorção e conseqüentemente a penetração do vírus é impedida. Contra o vírus *Herpes simplex* a atividade foi dependente do número de grupos galoilas ou hexa-hidróxi-difenoilas para taninos hidrolisáveis e do grau de condensação dos taninos condensados (Takechi et al., 1985). Baldé et al. (1991) testaram extrato e substâncias isoladas das cascas de *Pavetta owariensis* P. Beauv. *in vitro* contra os vírus *Herpes simplex* e *Coxsackie*, com sucesso. Hess et al. (1999) avaliaram a atividade anti-herpética com epicatequina, epigalocatequina, galocatequina, epigalocatequina-3-O-galato-(4 β →8)-epigalocatequina-3-O-galato e robinetinidol-(4 α →6)-galocatequina, observando-se uma atividade virucida para epicatequina.

Entre outras atividades dos taninos, a promoção da proliferação das células epiteliais de pêlos, em camundongos, pode representar uma perspectiva na recuperação dos pêlos para indivíduos com perda total ou parcial dos cabelos. Takahashi et al. (1998 e 1999) estudaram, *in vitro* e *in vivo*, a atividade das procianidinas B-1, B-2, B-3 e C-1 e de flavan-3-óis e seus resultados mostraram que, algumas destas substâncias, isoladamente, podem induzir a fase de crescimento dos pêlos (fase anagênica). Entretanto, os monômeros, catequina ou epicatequina, não apresentaram nenhuma atividade.

6. COMPLEXAÇÃO ENTRE TANINOS E PROTEÍNAS

Os complexos formados entre taninos e proteínas podem ser reversíveis ou irreversíveis. Os reversíveis são estabelecidos via pontes de hidrogênio e

interações hidrofóbicas, enquanto que os irreversíveis ocorrem em condições oxidativas via ligações covalentes.

As pontes de hidrogênio são provavelmente formadas entre as hidroxilas fenólicas dos taninos e os grupamentos amida das proteínas. As interações hidrofóbicas ocorrem entre os núcleos aromáticos dos taninos e as cadeias laterais alifáticas ou aromáticas dos aminoácidos protéicos (Sticher, 1999). Acredita-se que as interações hidrofóbicas atuam como forças de atração inicial na complexação em meio aquoso entre taninos e proteínas. Essa associação inicial é reforçada numa segunda etapa com a formação de uma rede polifuncional de ligações hidrogênio, nas quais cada molécula de tanino pode fazer várias ligações com a proteína, atuando, assim, como um ligante polidentado (Luck et al., 1994). Hagerman e col. (1998b) observaram uma correlação entre a polaridade do polifenol e o tipo de interação com a albumina bovina sérica (ABS). Moléculas menos polares, tais como 3-O-galoil-epicatequina e penta-galoil-glicose, interagem com a ABS predominantemente através de forças hidrofóbicas, enquanto que, as moléculas mais polares, heptagaloil-glicose e dímeros de taninos condensados, interagem, principalmente, por pontes de hidrogênio.

Os complexos reversíveis podem ser solúveis ou insolúveis, dependendo da proporção tanino/proteína, do pH e da força iônica do meio. A adição de pequenas quantidades de proteína a uma solução de tanino produz um precipitado que é dissolvido com a adição de mais proteína. O máximo de precipitação ocorre então quando existe uma proporção ótima entre tanino e proteína (Luck et al., 1994), que é, no entanto, dependente da quantidade de sítios ligantes como grupos galoila e hidroxilas fenólicas, presentes nos taninos (Kawamoto et al., 1996).

A capacidade dos diversos taninos de se complexarem com proteínas varia conforme a sua estrutura química. Foi observado que o peso molecular e a flexibilidade da molécula são fatores importantes no processo de complexação (McManus et al., 1985). Vários estudos comparando as afinidades relativas dos grupos galoila-ésteres com várias proteínas demonstraram a tendência decrescente na sequência penta- > tetra- > tri- > di- > mono-galoil-glicose, ou seja, quanto maior o número de grupos galoila maior a afinidade pelas proteínas (Kawamoto et al., 1996; Baxter et al., 1997; Bacon e Rhodes, 2000). Por outro lado, fatores na estrutura das proteínas tais como conformação e tamanho do polímero também influenciam na afinidade dessas moléculas com os taninos (Hagerman e Butler, 1981). Vários estudos mostraram a grande afinidade dos taninos, condensados e hidrolisáveis, por proteínas ricas em prolina, tais como as proteínas presentes na saliva de mamíferos (Baxter et al., 1997; Bacon e Rhodes, 2000).

Os complexos irreversíveis entre taninos e proteínas ocorrem na planta quando seus tecidos são danificados, por auto-oxidação ou oxidação catalisa-

da por enzimas. Oxidações similares também acontecem *in vitro* quando os complexos reversíveis de tanino-proteína são expostos ao ar ou são mantidos em soluções de pH alto. Em ambos os casos, os fenóis são transformados em quinonas que reagem com grupos nucleofílicos na proteína formando, então, ligações covalentes (Haslam, 1998).

7. EMPREGO INDUSTRIAL E OUTROS

Taninos têm sido utilizados no curtimento do couro desde a antiguidade, sendo que sua obtenção permanece como uma das mais importantes aplicações comerciais de todo extrativo obtido de madeiras. As espécies vegetais mais utilizadas como fonte de taninos são: quebracho (espécies de *Schinopsis*) e acácia (*Acacia mearnsii* De Wild.). Além dessas, também são produzidos extratos de taninos a partir de espécies dos gêneros: *Tsuga*, *Castanea*, *Quercus* e *Terminalia*.

Taninos condensados reagem rapidamente com formaldeído produzindo polímeros com poder aglutinante. Esses polímeros têm sido empregados como um meio para reduzir o fluxo de água em barragens, para estabilizar o solo em fundações de construções, na produção de borrachas, na fabricação de aglomerados e laminados de madeira e na fabricação de resinas de troca catiônica. Derivados produzidos entre taninos condensados e amônio quaternário com etanolamina, dimetilamina e formaldeído, ou cloreto de dietilaminoetila e iodeto de metila têm sido usados como base para agentes floculantes ou coagulantes para o tratamento de água (Porter e Hemingway, 1989).

Espumas de uretano, com boa resistência à flamabilidade, podem ser preparadas através da reação de taninos com isocianatos (Hartman, 1977). Muitas reações de taninos envolvem a complexação com cátions. Quando sulfonados, os taninos condensados podem ser empregados para formar complexos de metais pesados solúveis em água, que são utilizados em plantações de cítricos com deficiência de ferro ou na complexação com chumbo no controle da poluição em rodovias. Complexos com cobre são efetivos biocidas para a preservação de madeiras.

Taninos contribuem significativamente para a sensação adstringente de vinhos, sucos de frutas, chás e de outras bebidas. Os flavan-3-óis, proantocianidinas e antocianidinas são de crucial importância para o desenvolvimento do sabor e da aparência do vinho tinto em seu processo de envelhecimento (Singleton, 1992). Os flavan-3-óis estão presentes tanto no vinho como no chá-verde, que, através de um processo fermentativo, é transformado no conhecido chá-preto. As características do chá-preto como cor, aroma e sabor estão diretamente associadas às transformações oxidativas que os flavan-3-óis do mesmo chá ainda verde sofrem durante a fermentação.

O papel biológico dos taninos nas plantas tem sido investigado e acredi-

ta-se que eles estejam envolvidos na defesa química das plantas contra o ataque de herbívoros vertebrados ou invertebrados e contra microorganismos patogênicos. Foi observada uma inibição na alimentação de herbívoros em plantas com altos teores de taninos. Três revisões mostram os resultados de investigações feitas com várias plantas e herbívoros (Mole e Waterman, 1987a e 1987b; Butler, 1989; Bernays et al., 1989). Os modos de ação propostos contra os herbívoros seriam a diminuição da palatabilidade pelo sabor adstringente, dificuldades na digestão pela complexação dos taninos com enzimas digestivas e/ou com proteínas da planta e, por último, formação de produtos tóxicos no trato digestivo a partir da hidrólise dos taninos.

8. ISOLAMENTO, PURIFICAÇÃO E ELUCIDAÇÃO ESTRUTURAL

8.1. Extração e isolamento

Muita atenção tem sido dada à análise de taninos e de outros compostos fenólicos em plantas, devido à sua importância farmacológica e ecológica.

Vários métodos de análises química e bioquímica, objetivando a determinação de taninos, têm sido empregados, entretanto, o modo de preparação do material vegetal tem causado, por vezes, erros maiores do que a análise em si, levando a crer na necessidade de estudos e otimização dos métodos de preparo deste material. Cork e Krockenberger (1991) e Hagerman (2001) investigaram as condições ótimas para extração de taninos e de outros compostos fenólicos e as condições de acondicionamento dos extratos. Em geral, é inconveniente a análise de tecidos frescos, tornando-se indispensável a realização de operação de secagem. Os métodos de secagem que empregam calor, como a secagem ao sol ou em estufa com temperaturas acima de 70 °C, diminuem consideravelmente a concentração de taninos e de outras substâncias fenólicas. Mesmo a secagem ao ar, à sombra e à temperatura ambiente, pode alterar os teores de taninos, mas em menor proporção. O método ideal é a liofilização que, além de preservar os taninos, aumenta a sua extratibilidade.

Outro fator de suma importância no procedimento de extração de taninos é a seleção do solvente. Vários autores têm recomendado o uso de misturas de solventes como p.ex.: metanol: água (por aquecimento ou à temperatura ambiente); metanol: ácido e acetona: água. A presença de água em solventes orgânicos como metanol e acetona pode aumentar o rendimento da extração de compostos fenólicos. A acetona bloqueia a associação tanino-proteína, o que não ocorre com o metanol. Hagerman (1988) confirmou o aumento significativamente superior na extração de taninos, tanto condensados como hidrolisáveis, pela extração com acetona-água, em relação a metanol-água. Apesar dessas informações serem importantes, é fundamental frisar que a es-

tabilidade dos taninos em meio acetona-aquoso é inferior do que em meio metanol-água. Pode-se dizer ainda que a extração, empregando metanol-água, serve com finalidade qualitativa, enquanto que com acetona-água possui finalidade quantitativa.

Após isolamento e purificação os taninos hidrolisáveis apresentam uma razoável estabilidade e podem ser mantidos à temperatura ambiente sem decomposição. Já os taninos condensados precisam ser mantidos a temperaturas baixas e sem exposição à luz.

8.2. Purificação e elucidação estrutural

O processo de isolamento e purificação de taninos hidrolisáveis e condensados se dá inicialmente pela extração com a mistura de solventes acetona-água na proporção de 1:1 ou 7:3. Segue-se, então, evaporação da acetona utilizando vácuo e, quando necessária, eliminação por filtração de ácidos graxos e clorofila que precipitam na água. Após essa etapa, o extrato bruto pode ser submetido a um fracionamento inicial, empregando-se a partição líquido-líquido com solventes como: acetato de etila e *n*-butanol, concentrando-se sob pressão reduzida (evaporador rotatório) com conseqüente eliminação do solvente orgânico, seguida da liofilização.

As frações liofilizadas obtidas são submetidas à cromatografia em coluna, utilizando-se diferentes suportes como: Sephadex LH-20, gel de sílica de fase reversa C18 e os polímeros vinílicos MCI-gel CHP-20P, Diaion HP 20 e Toyopearl HW-40 (Okuda et al., 1989; Yoshida et al., 1995; Mello et al., 1996a). O sistema eluente EtOH; EtOH/MeOH e MeOH é empregado com o suporte Sephadex LH-20; nesse caso os compostos são eluídos em ordem crescente de polaridade e tamanho: monômeros → dímeros → trímeros. Substâncias diméricas e triméricas com ligação (4→8) eluem-se antes dos correspondentes (4→6) para os taninos condensados (Thompson et al., 1972). Os polímeros dos taninos condensados adsorvem fortemente ao Sephadex LH-20 e, com isso, diminuem o tempo de vida útil desse suporte. O sistema eluente para os outros suportes é geralmente o gradiente água, água/MeOH e MeOH. Nesse caso, os compostos são eluídos em ordem decrescente de polaridade e tamanho: polímeros, oligômeros, trímeros, dímeros e monômeros.

O acompanhamento da eluição dos compostos da cromatografia em coluna é feito pelo uso de cromatografia em camada delgada, utilizando-se como suporte gel de sílica F₂₅₄ e como fase móvel, para taninos condensados: acetato de etila: ácido fórmico: água (90: 5: 5; V/V) ou acetona: tolueno: ácido fórmico (3: 3: 1; V/V) e, para taninos hidrolisáveis: tolueno: formiato de etila: ácido fórmico (1: 7: 1; V/V). Na revelação as cromatoplacas são borrifadas com solução etanólica de FeCl₃ a 1% ou solução de vanilina/H₂SO₄ ou vanilina/HCl a 1% seguida de aquecimento.

A purificação final dos compostos presentes nas frações obtidas nas cromatografias anteriores pode ser feita através do uso da cromatografia líquida de contra-corrente (DCCC, MLCCC ou HSCCC), da cromatografia líquida de média pressão (CLMP), ou ainda da cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Nesse último caso, utilizam-se colunas de gel de sílica em fase reversa C18. O sistema de solventes utilizado para taninos hidrolisáveis, monômeros e dímeros, pode ser: acetonitrila e tampão fosfato (H_3PO_4 e KH_2PO_4 , 10 mM) (Yoshida et al., 1995), ou gradiente de acetonitrila e solução aquosa de ácido fórmico a 1% (Salminen et al., 2001). Taninos condensados, monômeros, dímeros e trímeros, podem ser isolados por CLAE utilizando-se diferentes proporções de MeOH: água ou MeOH: acetonitrila: água (15:5:80; V/V) (Mello et al., 1996a).

Os taninos condensados podem, ainda, ser acetilados com piridina e anidrido acético e separados por cromatografia em camada delgada preparativa empregando-se como fase estacionária gel de sílica F_{254} e como fase móvel misturas de tolueno:acetona (Mello et al., 1996a).

A elucidação estrutural de taninos faz-se através da espectroscopia de ressonância magnética nuclear de prótons (^1H -RMN) e carbono (^{13}C -RMN) (Yoshida et al., 1984; Kolodziej, 1986; Hatano et al., 1988; Okuda et al., 1989; Yoshida et al., 1992; Balas e Vercauteren, 1994), utilizando técnicas uni e bi-dimensionais, para determinação estrutural; espectrometria de massas (Karchesy et al., 1986; Isobe et al., 1989; Ohnishi-Kameyama et al., 1997), objetivando determinar a massa molecular da substância e dicroísmo circular, visando a determinação da configuração absoluta do próton na posição C-2 do anel C, no caso dos taninos condensados. Flavan-3-óis com uma configuração 2R apresentam um efeito negativo na região de 280 nm e um efeito positivo na região de 235 nm. Uma configuração 2S determina efeitos contrário, como, por exemplo, no caso de *ent*-catequina, (+)-epicatequina. Além disso, a metodologia de dicroísmo circular serve para determinar a configuração dos anéis aromáticos dos grupos HHDP nos taninos hidrolisáveis (Okuda et al., 1982). O uso da rotação específica auxilia na confirmação da configuração apontada inicialmente pelo dicroísmo circular.

9. MÉTODOS DE ANÁLISE

Vários métodos são conhecidos e tradicionais para o reconhecimento de taninos. Teste com solução de gelatina a 1%, contendo 10% de cloreto de sódio, fornece um precipitado ou mesmo turvação. Esse teste não é específico, sendo que alguns fenóis apresentam reação positiva ao se encontrarem em altas concentrações. Outro teste baseia-se na propriedade dos taninos de precipitarem com alcalóides: p.ex. com soluções de cinchonina, cafeína ou estricina a 1 a 2%.

Na tentativa de diferenciar os tipos de taninos, podem ser empregados dois diferentes reativos (Schneider, 1990):

1 - Solução de cloreto férrico: taninos hidrolisáveis produzem, com solução diluída de cloreto férrico, uma forte coloração azul, principalmente em meio alcalino. Soluções aquosas de derivados de catequina, por sua vez, resultam numa coloração verde, cuja intensidade é mais fraca do que os taninos hidrolisáveis. Em misturas de ambos os tipos de taninos, a coloração verde não é observada.

2 - Formaldeído-ácido clorídrico: uma solução de taninos é mantida sob refluxo com formaldeído-ácido clorídrico por 30 minutos. Derivados da catequina formam precipitados e são separados por filtração. No filtrado, pode ser verificada a presença do ácido gálico através da adição de acetato de sódio e de cloreto férrico.

Extratos brutos de plantas podem ser investigados quanto à presença de taninos através de hidrólise e cromatografia em papel dos produtos (Mole e Waterman, 1987a e 1987b). A hidrólise é realizada aquecendo-se à ebulição, por 30 minutos, o extrato diluído em HCl 2M. Após resfriamento, os produtos da hidrólise são extraídos com álcool amílico e cromatografados em papel com o eluente Forestal (ácido acético glacial: água: HCl conc.: 30:10:3; V/V). Antocianidinas, formadas a partir de taninos condensados, são identificadas como manchas de cor rosa, vermelha ou violeta, que mudam para a azul após exposição a vapores de amônia. Ácido elágico e ácido gálico, formados a partir de taninos hidrolisáveis, também são identificados diferenciadamente com amônia. O primeiro aparece como uma mancha azul sob luz UV, que muda para amarelo após exposição à amônia, enquanto que o segundo aparece como uma mancha marrom, após 30 minutos de exposição aos vapores de amônia.

Existem vários métodos para o doseamento de polifenóis, desde os mais gerais para fenóis totais e taninos, como os mais específicos para proantocianidinas, galotaninos e elagitaninos. Revisões podem ser consultadas sobre este assunto (Hagerman, 2001; Schofield et al., 2001; Mueller-Harvey, 2001). Geralmente em estudos de ecologia química empregam-se ensaios para a quantificação de fenóis totais, tais como os métodos de Folin-Denis (Seigler et al., 1986), Folin-Ciocalteu (Singleton et al., 1999) e Price-Butler (Graham, 1992). Estes métodos utilizam reações de oxi-redução entre o reagente e as hidroxilas fenólicas gerando complexos coloridos, que são quantificados por espectrofotometria. Nesses métodos todas as substâncias fenólicas presentes na planta são doseadas, não apenas os taninos. Vantagens e desvantagens de cada método são analisadas e discutidas por Waterman e Mole (1994), Hagerman et al. (1997) e Schofield et al. (2001).

Para o doseamento de taninos podem ser empregados métodos que utilizam a propriedade dessa classe de substâncias de precipitar proteínas. Existem dois métodos que empregam pó-de-pele como fonte de proteína (colágeno). A

avaliação do teor de taninos nesses métodos pode ser feita por espectrofotometria, como no ensaio apresentado na monografia para *Hamamelis virginiana* L. Farmacopéia Brasileira (1996) ou por gravimetria, como no ensaio recomendado pela Organização Mundial de Saúde (World, 1992). Este segundo método tem sido utilizado tradicionalmente pelas indústrias de couro. Existem, porém, outros métodos que são mais rápidos e sensíveis, requerendo, portanto, menor quantidade de amostra. Empregando-se a ABS para complexação com taninos, seguido de centrifugação e dissolução do precipitado com detergente, podem-se quantificar os taninos precipitados ou a proteína precipitada por espectrofotometria (Hagerman, 2001). Esses métodos são úteis não apenas para o doseamento de taninos, mas também para obtenção de informações quanto à capacidade de cada tanino de complexar-se com proteínas.

O emprego de outras moléculas protéicas, como a caseína (Carvalho, 1997; Martins, 1998), ou polímeros sintéticos, em especial a polivinilpirrolidona (Soares, 2002), tem sido estudados, com a finalidade de contornar o problema da variabilidade da composição do pó de pele ou da ABS.

Os doseamentos mais específicos requerem a degradação ou hidrólise dos dois tipos de taninos, os produtos liberados são doseados por espectrofotometria. Os taninos condensados podem ser quantificados pelo método da proantocianidina que utiliza a degradação ácida das cadeias poliméricas formando antocianidinas coloridas (Dalzell e Kerven, 1998, Hagerman, 2001). Os taninos hidrolisáveis (galo- e elagitaninos) podem ser doseados pelo ensaio do iodato de potássio (KIO_3), melhorado por Willis e Allen (1998). Existem dois ensaios mais específicos para taninos hidrolisáveis. Os galotaninos podem ser quantificados através da sua hidrólise em meio ácido e complexação do ácido gálico liberado com o corante rodanina, gerando um produto colorido (Inoue e Hagerman, 1988). Os elagitaninos também são hidrolisados e o ácido elágico liberado forma um complexo colorido com nitrito de sódio (Wilson e Hagerman, 1990). Todos estes métodos apresentam inconvenientes que são discutidos nas revisões de Mueller-Harvey (2001) e Schofield et al. (2001).

Taninos condensados podem ser analisados na composição de suas unidades monoméricas e no comprimento médio de suas cadeias através de dois métodos: tiólise e degradação com floroglucinol. No primeiro o tanino condensado reage com benzil mercaptano em meio ácido. O polímero é degradado e obtêm-se as subunidades derivadas em benzil-tioéteres, essas são quantificadas por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) (Mathews et al., 1997; Labarbe et al., 1999). O segundo método é semelhante ao primeiro, com a substituição do mercaptano por floroglucinol, com isso obtêm-se as subunidades na forma de adutos com floroglucinol e esses são quantificados por CLAE. Esse método tem a vantagem de ser menos tóxico (Kennedy e Jones, 2001).

A análise de taninos condensados por CLAE, sem prévia hidrólise, também é possível, no entanto, em fase reversa, ela se restringe a moléculas me-

nores, de monômeros até tetrâmeros, acima desse tamanho a análise é prejudicada pela grande quantidade de isômeros (Lazarus et al., 1999; Schofield et al., 2001). O método mais adequado para a separação e análise de oligômeros e polímeros utiliza coluna de fase normal e eluição com solventes tais como diclorometano, MeOH, água e ácido acético (Lazarus et al., 1999).

Taninos hidrolisáveis são analisados e quantificados por CLAE usando colunas de fase normal e de fase reversa (Mueller-Harvey, 2001). Galotaninos podem ser analisados em coluna de fase reversa C18 utilizando gradiente de acetonitrila e solução aquosa de ácido fórmico a 5% (Ossipov et al., 1997). Hagerman (2001) propõe o uso de coluna em fase normal, com sistema isocrático de hexano: MeOH: THF: ácido trifluoracético, para separação e análise de ácido tânico (mistura de galotaninos). Para análise de elagitaninos pode-se empregar sistema isocrático em fase normal com hexano: MeOH: THF: ácido fórmico (47:42:10:1; V/V) e, em fase reversa, acetonitrila e tampão fosfato ($H_3PO_4 - KH_2PO_4$ 0,05 M) (15: 42,5: 42,5; V/V) (Lee et al., 2000).

10. DROGAS VEGETAIS CLÁSSICAS

HAMAMÉLIS

Nome científico: *Hamamelis virginiana* L.

Família botânica: Hamamelidaceae

Partes utilizadas: folhas (*Hamamelidis folium*)

Monografias farmacopéicas: Helv. VI, F. Bras. IV

Arbusto encontrado frequentemente nos bosques úmidos dos EUA e Canadá. Extratos das folhas e cascas são tradicionalmente utilizados em vários países. Essa planta é indicada como medicamento nas doenças do sistema venoso, tais como: hemorróidas, úlceras varicosas, flebite e varicocele (MacKay, 2001). Também é usada como hemostático em hemorragias internas e externas e como adstringente na cura de feridas, queimaduras e inflamações. Possui largo emprego em cosmética devido às suas propriedades adstringentes.

Dados químicos:

As cascas e folhas contêm uma mistura complexa de taninos condensados e hidrolisáveis, sendo que o hamamelitanino (2',5-di-O-galoila-hamamelofuranose) é o principal constituinte das cascas (fig. 14). Outros taninos hidrolisáveis como o mono e o tri-O-galoila-hamamelofuranoses e derivados galoila-hamameloses com substituição em C-1 são conhecidos (Schilling e Keller, 1986; Haberland e Kolodziej, 1994). Proantocianidinas diméricas também foram isoladas e identificadas (Hartisch e Kolodziej, 1996).

Dados farmacológicos:

Vários estudos, realizando testes *in vitro* e *in vivo*, avaliaram as atividades farmacológicas dos extratos de cascas e folhas. As ações relatadas para a hamamélis foram de inibição da 5-lipoxigenase e liso-PAF-acetil-CoA

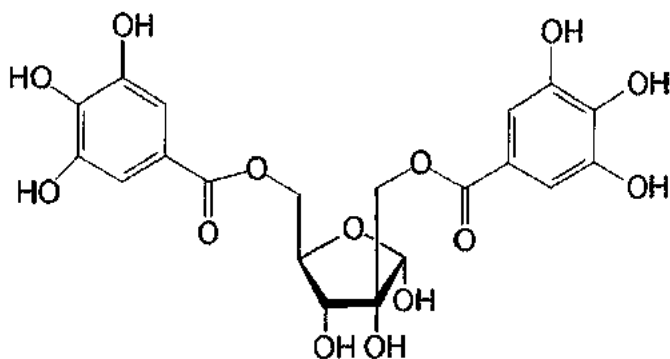


Figura 14. Hamamelitanino

(Hartisch et al., 1997), antiviral contra *Herpes simplex* tipo I, para as frações enriquecidas com proantocianidinas (Erdelmeier et al., 1996), repressão da formação de radicais de ânion superóxido (Masaki et al., 1994 e 1995), anti-edematogênica no modelo de edema de orelha (Dowiejua et al., 1994; Korting et al., 1993), anti-inflamatória no teste de eritema UVB (Hughes-Formella et al., 1998) e antimutagênica (Dauer et al., 1998). Um estudo preliminar avaliou seu emprego como protetor solar (Ramos et al., 1996).

O hamamelitanino puro apresentou inibição do fator de necrose tumoral (TNF) de células endoteliais (Habtemariam, 2002), o que pode explicar o uso de *Hamamelis virginiana* como anti-hemorragico.

Estudos realizados com cultura de células epidérmicas, os queratinócitos, mostraram que proantocianidinas poliméricas obtidas das cascas de *Hamamelis virginiana* aumentaram a proliferação dessas células. A utilização de uma formulação semi-sólida contendo as proantocianidinas no tratamento de pele com dermatite reduziu a perda de água transepidermal e a formação de eritema (Deters et al., 2001).

RATÂNIA

Nome científico: *Krameria triandra* Ruiz et Pav.

Sinonímia científica: *Krameria argentea* Mart. ex Spreng.

Família botânica: Krameriaceae

Partes utilizadas: raízes (*Ratanhiae radix*).

Monografias farmacopéicas: F. Bras. II, F. Bras. III, DAB 10, Ph. Eur., Ph. Helv VII, ÖAB 9

A planta é originária dos Andes e, por isso, também conhecida como ratânia-do-peru. Os taninos extraídos são denominados de vermelho-de-ratânia, possuindo uma coloração característica. Seu uso na higiene dental e como

cosmético labial pelos índios peruanos foi inicialmente descrito em 1784 pelo Farmacêutico Hipólito Ruiz Lopez, um dos responsáveis pela identificação e denominação do vegetal (Daems, 1981).

Dados químicos:

As cascas das raízes devem possuir no mínimo 10% em taninos, sendo a maior parte em taninos condensados (flavan-3-ol) (Kommission, 1994; Rimpler, 1990). Proantocianidinas oligoméricas com grau de polimerização entre 5 e 10 unidades foram determinadas a partir das raízes de ratânia (Scholz e Rimpler, 1989). Além desses compostos, apresentam-se lipofílicas neo e nor-neolignanas, dineolignanas e derivados benzofurânicos (Sticher, 1999).

Dados farmacológicos:

A droga possui propriedades adstringentes em virtude do seu conteúdo em taninos condensados (Fintelmann et al., 1993), sendo utilizada para a obtenção de tinturas, administrada sob a forma de colutórios no tratamento de afecções da região oro-faríngea, ou topicamente em hemorróidas. No entanto, já desde 1930 existem relatos de dermatites de contato causadas pela utilização tópica (Mitchell e Rook, 1979). Provavelmente a atividade antimicrobiana refere-se, além dos taninos, à presença das lignanas (Sticher, 1999).

TORMENTILA

Nome científico: *Potentilla erecta* (L.) Raeusch.

Família botânica: Rosaceae

Partes utilizadas: rizomas e tubérculos (*Tormentillae radix*)

Monografias farmacopéicas: DAB 10 e OAB 9

Espécie originária da Europa e Ásia Ocidental. A droga é coletada no outono e é constituída das partes subterrâneas, rizomas e tubérculos. O nome popular tormentila vem do latim *tormentum*, isto é, tormento, dor, pois esta espécie era considerada eficaz no combate a cólicas devidas a diarreias já durante a Idade Média (Font Quer, 1978).

Dados químicos:

Deve conter entre 15 e 22% em taninos condensados (proantocianidinas) e hidrolisáveis (elagitaninos). Possui, ainda, flavonóides e derivados do ácido fenil propanóico (ácidos salicílico, vanílico, isovanílico, gálico, siríngico, o-cumárico, caféico, entre outros) (Sticher, 1999).

As indicações gerais para a tormentila são semelhantes às citadas para a ratânia. Possui propriedade adstringente face à elevada concentração de taninos. As procianidinas isoladas apresentaram atividade anti-radical livre e propriedade antielastase (Bos et al., 1996), assim como os extratos de tormentila (Bol'shakova et al., 1998). O extrato aquoso possui atividade inibitória na biossíntese de prostaglandina e no fator de ativação plaquetária, sendo, ainda, um potente inibidor da ciclooxigenase (Tunon et al., 1995). A tintura é empregada nas afecções da mucosa bucal, tais como glossite, gengivite e estomatite

(Rietbrock et al., 1996). A alta concentração de taninos pode causar vômitos se houver ingestão de produtos derivados da droga.

CRATEGO

Nome científico: *Crataegus monogyna* Jaquin emend. Lindman e *Crataegus laevigata* (Poirét) DC.

Sinonímia científica: *Crataegus oxyacantha* L. é sinônimo de *Crataegus laevigata* (Poirét) DC. e frequentemente encontrado na literatura.

Família botânica: Rosaceae

Partes utilizadas: flores (*Crataegi flos*) ou folhas (*Crataegi folium*)

Monografias farmacopéicas: F. Bras. II, F. Bras. III, DAB 10, Ph. Helv. VI

Dados químicos:

Enquanto que a Farmacopéia Brasileira (1959 e 1977) não estabelece teores mínimos para grupos de substâncias, ficando os critérios de controle de qualidade ligados às características macro e microscópicas além de alguns ensaios físico-químicos, a Farmacopéia Alemã (1994) determina um teor mínimo de 0,70% em flavonóides totais calculados como hiperosídeo, podendo variar de 0,8 a 1,5% para folhas com flores (Sticher, 1999). O teor de procianidinas oligoméricas e flavan-3-óis chega a cerca de 2,7% por espectrofotometria (Sticher, 1999; Kommission, 1994). Comparativamente, a análise por cromatografia em camada delgada entre o extrato acetônico de espécies de *Crataegus* e *Hypericum perforatum* L. mostrou-se idêntico, no mínimo, para seis procianidinas (Melzer, 1990).

Dados farmacológicos:

O extrato hidroalcoólico com concentração definida de procianidina oligomérica de cratego fresco com flores atua em órgãos isolados de animais de laboratório, com um efeito inotrópico positivo, efeito positivo dromotrópico e efeito negativo batmotrópico (Kommission, 1994). O efeito sobre o coração deve ser devido às procianidinas. Elas aumentam em organelas celulares de armazenamento de Ca^{+2} a permeabilidade para esse íon e, com isso, aumentam a força de contração e o fluxo coronariano (Wagner, 1988). Uma comparação entre extratos de flores e suspensão de culturas de células de *Crataegus monogyna* mostrou propriedades antioxidantes similares (Rakotoarison et al., 1997). Anteriormente, Bahroun et al. (1996) haviam testado diferentes extratos das partes vegetativas e reprodutivas frescas de *Crataegus monogyna* usando três diferentes modelos de espécies reativas de oxigênio. A atividade tem sido correlacionada diretamente com o teor total de proantocianidinas e flavonóides. Um extrato seco obtido após extração com mistura hidroetanólica de espécies de *Crataegus* não apresentou toxicidade em ratos e cães após 26 semanas de uso com 30, 90 e 300 mg/kg, com administração por via oral. Ensaio realizados com ratos empregando-se o pó da droga nas doses de 300 e 600 mg/kg, p.o., após quatro semanas não apresentaram efeito tóxico nem

morte dos animais (Kommission, 1994). Estudos clínicos demonstraram o potencial emprego de produtos especiais dessa droga na insuficiência cardíaca devido à sua atividade antiarrítmica (Rietbrock et al., 1996).

BARBATIMÃO

Nome científico: *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville

Sinonímia científica: *Acacia adstringens* Mart., *Mimosa barbadetiman* Vell., *Stryphnodendron barbadetiman* (Vell.) Mart.

Família botânica: Leguminosae

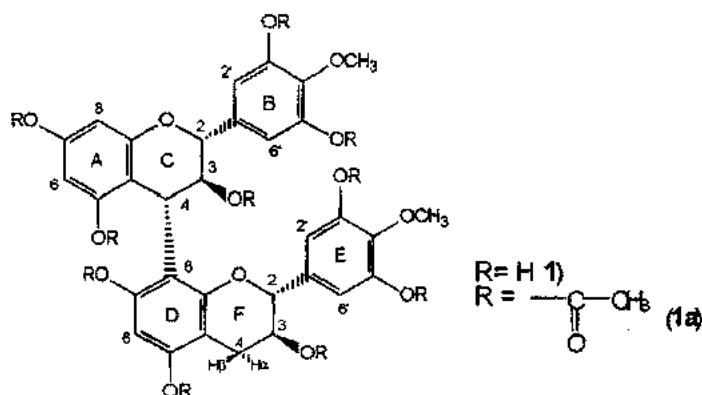
Partes utilizadas: cascas (*Barbadetiman cortex*)

Monografias farmacopéicas: F. Bras. I, F. Bras. II

Árvore característica da região do cerrado brasileiro, ocorrendo do sul do Pará até São Paulo e Mato Grosso do Sul. Na medicina popular as cascas desta espécie são utilizadas nas leucorréias e diarreias, por sua atividade adstringente.

Dados químicos:

As cascas possuem em torno de 20% em taninos totais. Das cascas foram isolados, a partir de um extrato acetona:água, diferentes taninos condensados, entre eles: flavan-3-óis, prodefinidinas e prorobinetinidinas (Mello et al., 1996a, 1996b e 1999) (fig. 15). Santos et al. (2002) avaliaram comparativamente a composição de taninos de três espécies diferentes conhecidas por barbatimão [*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville, *Stryphnodendron polyphyllum* Mart. e *Dimorphandra mollis* Benth.]. Os resultados mostraram diferenças marcantes entre os gêneros *Stryphnodendron* e *Dimorphandra*, e também diferenças químicas entre as espécies do mesmo gênero, as quais podem ser detectadas pelos métodos utilizados.



4'-O-metilgalocatequina-(4 α →8)-4'-O-metilgalocatequina

Figura 15. Prodefininidina dimérica isolada de uma fração do extrato do barbatimão

Dados farmacológicos:

Bersani-Amado et al. (1996) provaram que o extrato liofilizado do barbatimão, bruto e em frações de polaridade crescente, foi capaz de inibir o crescimento de *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*.

Lima et al. (1998) demonstraram que a fração acetônica do extrato bruto do *Stryphnodendron adstringens*, em modelos de inflamação aguda e crônica, apresentou diminuição significativa no edema de pata de rato induzido por carragenina e dextrana, confirmando a diminuição da permeabilidade vascular proposto por Neves et al. (1992b).

Através dos resultados obtidos por Audi et al. (1998), foi possível, além de confirmar os dados obtidos por Neves et al. (1992a e 1992b) e por Lima et al. (1998), apresentar novas perspectivas com resultados significativamente positivos na avaliação das atividades antiúlcera e hipotensora, tanto com extratos brutos como com frações semipurificadas.

PITANGUEIRA

Nome científico: *Eugenia uniflora* L.

Sinonímia científica: *Eugenia micheli* Lam.; *Stenocalyx micheli* (Lam.) Berg

Família botânica: Myrtaceae

Partes utilizadas: folhas (*Eugeniae folium*)

Árvore originária do Brasil e amplamente distribuída na América do Sul, tendo sido introduzida em outros continentes. A infusão das folhas é usada na medicina popular como adstringente, antidiarréico, carminativo, diurético, anti-reumático, antifebril, hipotensor, redutor do colesterol sanguíneo e controlador de ácido úrico na urina.

Dados químicos:

As folhas são ricas em polifenóis; os compostos já isolados e identificados são os elagitaninos macrocíclicos (fig. 16) oenoteína B, eugeniflorina D₁ e eugeniflorina D₂, o éster 1,2,4,6-tetra-*O*-galoila- β -D-glucose, o flavan-3-ol galocatequina e o flavonóide mircetina-3-*O*-ramnoglicósido (Lee et al., 1997). Os óleos voláteis das folhas também foram investigados e seus constituintes principais são: furanodieno, selina-1,3,7,11-trien-8-ona e oxidoselina-1,3,7,11-trien-8-ona (Weyerstahl et al., 1988; Morais et al., 1996).

Dados farmacológicos:

Pesquisas recentes, utilizando testes *in vitro* e *in vivo*, demonstraram que extratos das folhas de *Eugenia uniflora* possuem várias atividades farmacológicas, tais como: antidiarréica (Almeida et al., 1995), diurética e antiinflamatória (Schapoval et al., 1994), antifúngica (Lima et al., 1993), antimicrobiana (Adebajo et al., 1989), inibição da xantina oxidase (Schmeda-Hirschmann et al., 1987), antimalárica (Agbedahunsi e Aladesanmi, 1993), tripanossomícida (Adewunmi et al., 2001), hipoglicemiante (Arai et al., 1999), hipotenso-

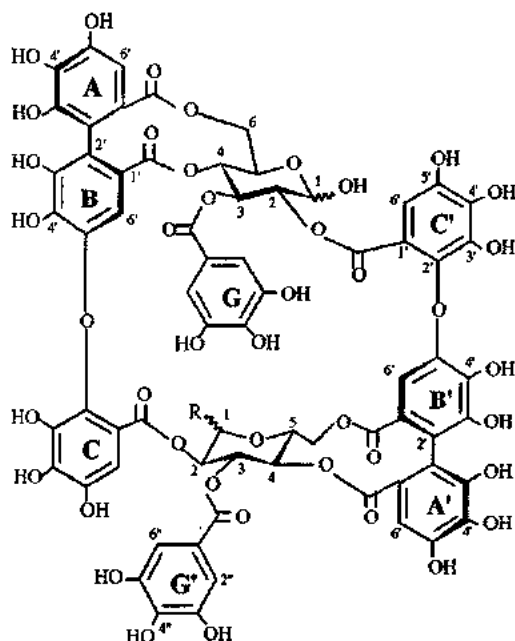


Figura 16. Oenoteína B (R=OH) e eugeniflorina D₁ (R=Ogaloiola) encontradas em folhas de pitangueira

ra (Wazlawik et al., 1997; Consolini et al., 1999; Consolini e Sarubbio, 2002) e efeito de contração do duodeno (Gbolade et al., 1996).

Os elagitaninos, eugeniflorina D₁ e D₂, inibiram a enzima EBV DNA polimerase responsável pela replicação do vírus Epstein-Barr, causador do carcinoma nasofaríngeal (Lee et al., 2000).

11. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADEBAJO, A.C.; OLOKE, K.J.; ALADESANMI, A.J. Antimicrobial activities and microbial transformation of volatile oils of *Eugenia uniflora*. *Fitoterapia*, v. 60, n. 5, p. 451-455, 1989.
- ADEWUNMI, C.O.; AGBEDAHUNSI, J.M.; ADEBAJO, A.C.; ALADESANMI, A.J.; MURPHY, N.; WANDO, J. Ethno-veterinary medicine: screening of Nigerian medicinal plants for trypanocidal properties. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 77, p. 19-24, 2001.
- AGBEDAHUNSI, J.M.; ALADESANMI, A.J. Effect of *Eugenia uniflora* on early malaria infection. *Fitoterapia*, v. 64, n. 2, p. 174-175, 1993.

- ALMEIDA, C.E.; KARNIKOWSKI, M.G.O.; FOLETO, R.; BALDISSEROTTO, B. Analysis of antidiarrhoeic effect of plants used in popular medicine. *Revista de Saúde Pública*, v. 29, n. 6, p. 428-433, 1995.
- ARAI, I.; AMAGAYA, S.; KOMATSU, Y.; OKADA, M.; HAYASHI, T.; KASAI, M.; ARISAWA, M.; MOMOSE, Y. Improving effects of the extracts from *Eugenia uniflora* on hyperglycemia and hypertriglyceridemia in mice. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 68, p. 307-314, 1999.
- AUDI, E.A.; TOLEDO, D.P.; PERES, P.G.; KJMURA, E.; PEREIRA, W.K.V.; MELLO, J.C.P. de; NAKAMURA, C.V.; ALVES-DO-PRADO, W.; CUMAN, R.K.N.; BERSANI-AMADO, C.A. Gastric antiulcerogenic effects of *Stryphnodendron adstringens* in rats. *Phytotherapy Research*, v. 13, p. 264-266, 1999.
- BACON, J.R.; RHODES, M.J.C. Binding affinity of hydrolysable tannins to parotid saliva and to proline-rich proteins derived from it. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, v. 48, p. 838-843, 2000.
- BAHORUN, T.; GRESSION, B.; TROTIN, F.; BRUNET, C.; DINE, T.; LUYCKX, M.; CAZIN, M.; CAZIN, J.C.; PINKAS, M. Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arzneimittel Forschung*, v. 46, n. 11, p. 1086-1089, 1996.
- BALAS, L.; VERCAUTEREN, J. Extensive high-resolution reverse 2D NMR analysis for the structural elucidation of procyanidin oligomers. *Magn. Resn. Chem.*, v. 32, p. 386-393, 1994.
- BAXTER, N.J.; LILLEY, T.H.; HASLAM, E.; WILLIAMSON, M.P. Multiple interactions between polyphenols and salivary proline-rich protein repeat result in complexation and precipitation. *Biochemistry*, v. 36, p. 5566-5577, 1997.
- BEART, J.E.; LILLEY, T.H.; HASLAM, E. Plant polyphenols - secondary metabolism and chemical defence: some observations. *Phytochemistry*, v. 24, p. 33-38, 1985.
- BENNIE, L.; COETZEE, J.; MALAN, E.; FERREIRA, D. Structure and stereochemistry of dimeric proteracacinidins possessing the rare C-4(C)@C-5(D) interflavanyl linkage. *Phytochemistry*, v. 59, p. 673-678, 2002.
- BERNAYS, E.A.; COOPER DRIVER, G.; BILGENER, M. Herbivores and plant tannins. *Advances in Ecology Research*, v. 19, p. 263-302, 1989.
- BERSANI-AMADO, C.A.; NAKAMURA, C.V.; NAKAMURA, T.U.; MARTINEZ, M.; MELLO, J.C.P. Avaliação das atividades antiinflamatória e antibacteriana do extrato bruto do *Stryphnodendron adstringens* (barbatimão). In: XIV SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 82, 1996, Florianópolis, Resumos..., Florianópolis: s.ed., 1996.
- BOL'SHAKOVA, I.V.; LOZOVSKAIA, E.L.; SAPEZHINSKI, I.I. Antioxidant properties of plant extracts. *Biofisika*, v. 43, n.2, p. 186-188, 1998.
- BOS, M.A.; VENNAT, B.; MEUNIER, M.T.; POUGET, M.P.; PURRAT, A.; FIALIP, J. Procyanidins from tormentill: antioxidant properties towards lipoperoxidation and anti-elastase activity. *Biological Pharmaceutical Bulletin*, v. 19, n. 1, p. 146-148, 1996.
- BUTLER, L.G. Effects of condensed tannin on animal nutrition. In: HEMINGWAY, R.W.; KARCHESY, J.J.; BRANHAM, S.J. (ed.). *Chemistry and Significance of Condensed Tannins*. New York: Plenum, 1989. p. 391-402.
- CARVALHO, E.L.S. *Desenvolvimento de produto seco nebulizado de Maytenus ilicifolia Martius ex Reiss. - Celastraceae (espínheira-santa)*. Porto Alegre: Pro-

- grama de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, 1997. Dissertação de Mestrado.
- CHUNG, K.T.; LU, Z.; CHOU, M.W. Mechanism of inhibition of tannic acid and related compounds on the growth of intestinal bacteria. *Food and Chemical Toxicology*, v. 36, p. 1053-1060, 1998.
- CONSOLINI, A.E.; BALDINI, O.A.N.; AMAT, A.G. Pharmacological basis for the empirical use of *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae) as antihypertensive. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 66, p. 33-39, 1999.
- CONSOLINI, A.E.; SARUBBIO, M.G. Pharmacological effects of *Eugenia uniflora* (Myrtaceae) aqueous crude extract on rat's heart. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 81, p. 57-63, 2002.
- CORK, S.J.; KROCKENBERGER, A.K. Methods and pitfalls of extracting condensed tannins and other phenolics from plants: insights from investigations on *Eucalyptus* leaves. *Journal of Chemistry and Ecology*, v. 17, p. 123-134, 1991.
- DAEMS, W.F. Radix Ratanhiae – die Droge mit einer gesicherten Geschichte. *Deutsche Apotheker Zeitung*, v. 121, n. 2, p. 46-52, 1981.
- DALZELL, S.A.; KERVEN, G.L. A rapid method for the measurement of *Leucaena* spp. proanthocyanidins by the proanthocyanidin (butanol/HCl) assay. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, v. 78, p. 405-416, 1998.
- DAUER, A.; METZNER, P.; SCHIMMER, O. Proanthocyanidins from the bark of *Hamamelis virginiana* exhibit antimutagenic properties against nitroaromatic compounds. *Planta Medica*, v. 64, n. 4, p. 324-327, 1998.
- DE BRUYNE, T.; PIETERS, L.; DEELSTRA, H.; VLIETINCK, A.J. Condensed vegetable tannins: biodiversity in structure and biological activities. *Biochemistry and Systematic Ecology*, v. 27, p. 445-459, 1999a.
- DE BRUYNE, T.; PIETERS, L.; WITVROUW, M.; DE CLERCQ, E.; BERGHE, D.V.; VLIETINCK, A.J. Biological evaluation of proanthocyanidins and related polyphenols. *Journal of Natural Products*, v. 62, p. 954-958, 1999b.
- DETERS, A.; DAUER, A.; SCHNETZ, E.; FARTASCH, M.; HENSEL, A. High molecular compounds (polysaccharides and proanthocyanidins) from *Hamamelis virginiana* bark: influence on human skin keratinocyte proliferation and differentiation and influence on irritated skin. *Phytochemistry*, v. 58, p. 949-958, 2001.
- DEUTSCHES Arzneibuch. 10 Ausgabe. Stuttgart: Govi, Frankfurt: Wissenschaftliche, 1994.
- DUFRESNE, C.J.; FARNWORTH, E.R. A review of latest research findings on health promotion properties of tea. *Journal of Nutritional Biochemistry*, v. 12, p. 404-421, 2001.
- DUWIEJUA, M.; ZEITLIN, L.J.; WATERMAN, P.G.; GRAY, A.I. Anti-inflammatory activity of *Polygonum bistorta*, *Guaiacum officinale* and *Hamamelis virginiana* in rats. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, v. 46, n. 4, p. 286-290, 1994.
- ERDELMEIER, C.A.J.; CINATL, J. Jr.; RABENAU, H.; DOERR, H.W.; BIBER, A.; KOCH, E. Antiviral and antiphlogistic activities of *Hamamelis virginiana* bark. *Planta Medica*, v. 62, n. 3, p. 241-245, 1996.
- FARMACOPÉIA Brasileira. 2. ed. São Paulo: Siqueira, 1959.
- FARMACOPÉIA Brasileira. 3. ed. São Paulo: Atheneu, 1977.
- FARMACOPÉIA Brasileira. 4.ed. São Paulo: Athenau, 1996. Mon. *Hamamelis virginiana*.

- FINTELMANN, V.; MENSSEN, H.G.; SIEGERS, C.-P. *Phytotherapie Manual*. 2. Aufl. Stuttgart: Hippokrates, 1993. p. 179.
- FONT QUER, P. *Plantas medicinales - el Dioscórides renovado*. Barcelona: Labor, 1978. 1033 p.
- FOO, L.Y.; LU, Y.; HOWELL, A.B.; VORSA, N. A-type proanthocyanidin trimers from cranberry that inhibit adherence of uropathogenic P-fimbriated *Escherichia coli*. *Journal of Natural Products*, v. 63, p. 1225-1228, 2000.
- FREUDENBERG, K.; WEINGES, K. Catechine, andere Hydroxy-flavane und Hydroxy-flavene. *Fortschritte der Chemie organischen Naturstoffe*, v. 16, p. 1-25, 1958.
- FREUDENBERG, K.; WEINGES, K. Systematik und Nomenklatur der Flavonoide. *Tetrahedron*, v. 8, p. 336-349, 1960.
- GBOLADE, A.A.; ILESANMI, O.R.; ALADESANMI, A.J. The contractile effects of the extracts of *Eugenia uniflora* on isolated rat duodenum. *Phytotherapy Research*, v. 10, n. 7, p. 613-615, 1996.
- GRAHAM, H.D. Stabilization of the prussian blue color in the determination of polyphenols. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, v. 40, p. 801-805, 1992.
- GROSS, G.G. Enzymes in the biosynthesis of hydrolyzable tannins. In: HEMINGWAY, R.W.; LAKS, P.E. (ed.). *Plant Polyphenols*. New York: Plenum, 1992. p. 43-60.
- HABERLAND, C.; KOLODZIEJ, H. Novel galloylhamameloses from *Hamamelis virginiana*. *Planta Medica*, v. 60, n. 5, p. 464-466, 1994.
- HABTEMARIAM, S. Hamamelitannin from *Hamamelis virginiana* inhibits the tumour necrosis factor- α (TNF) induced endothelial cell death *in vitro*. *Toxicol*, v. 40, p. 83-88, 2002.
- HAGERMAN, A.E. Extraction of tannin from fresh and preserved leaves. *Journal of Chemistry and Ecology*, v. 14, p. 453-461, 1988.
- _____. *Tannin Chemistry*. 2001. Disponível na Internet no site <http://users.muohio.edu/hagermae>, capturado como tannins.pdf em 6.7. 2002.
- HAGERMAN, A.E.; BUTLER, L.G. The specificity of proanthocyanidin - protein interactions. *Journal of Biology and Chemistry*, v. 256, p. 4494-4497, 1981.
- HAGERMAN, A.E.; ZHAO, Y.; JOHNSON, S. Methods for determination of condensed and hydrolysable tannins. In: SHAHODI, F. (ed.). *Antinutrients and Phytochemicals in Food*. In: ACS SYMPOSIUM SERIES 662 OF THE AMERICAN CHEMISTRY SOCIETY, 1997. Cap. 12., p. 209-222.
- HAGERMAN, A.E.; RIEDL, K.M.; JONES, A.G.; SOVIK, K.N.; RITCHARD, N.T.; HARTZFELD, P.W.; RIECHEL, T.L. High molecular weight plant polyphenolics (tannins) as biological antioxidants. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, v. 46, p. 1887-1892, 1998a.
- HAGERMAN, A.E.; RICE, M.E.; RITCHARD, N.T. Mechanisms of protein precipitation for two tannins, pentagalloyl glucose and epicatechin₆(4-8) catechin (procyanidin). *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, v. 46, p. 2590-2595, 1998b.
- HARTISCH, C.; KOLODZIEJ, H. Galloylhamameloses and proanthocyanidins from *Hamamelis virginiana*. *Phytochemistry*, v. 42, n. 1, p. 191-198, 1996.
- HARTISCH, C.; KOLODZIEJ, H.; VON-BRUCHHAUSEN, F. Dual inhibitory activities of tannins from *Hamamelis virginiana* and related polyphenols on 5-lipoxygenase and lyso-PAF: acetyl-CoA acetyltransferase. *Planta Medica*, v. 63, n. 2, p. 106-110, 1997.

- HARTMAN, S. Polyurethane foams from the reaction of bark and diisocyanate. *American Chemistry Society*, Washington, p. 257-269, 1977.
- HASLAM, E. Natural polyphenols (vegetable tannins) as drugs and medicines: possible modes of action. *Journal of Natural Products*, v. 59, p. 205-215, 1996.
- HASLAM, E. *Pratica! polyphenols – from structure to molecular recognition and physiological action*. Cambridge: Cambridge University, 1998. 321 p.
- HASLAM, E.; CAI, Y. Plant polyphenols (vegetable tannins): gallic acid metabolism. *Natural Products Report*, p. 41-46, 1994.
- HATANO, T.; YOSHIDA, T.; SHINGU, T.; OKUDA, T. ¹³C nuclear magnetic resonance spectra of hydrolysable tannins. II. Tannins forming anomer mixtures. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, v. 36, p. 2925-2933, 1988.
- HATANO, T.; YASUHARA, T.; MATSUDA, M.; YAZAKI, K.; YOSHIDA, T.; OKUDA, T. Oenothetin B, a dimeric, hydrolysable tannin with macrocyclic structure and accompanying tannins from *Oenothera erythrosepala*. *Journal of the Chemical Society, Perkin Trans. I*, p. 2735-2743, 1990.
- HATANO, T.; MIYATAKE, H.; NATSUME, M.; OSAKABE, N.; TAKIZAWA, T.; ITO, H.; YOSHIDA, T. Proanthocyanidin glycosides and related polyphenols from cacao liquor and their antioxidant effects. *Phytochemistry*, v. 59, p. 749-758, 2002.
- HATTORI, M.; KUSUMOTO, L.T.; NAMBA, T.; ISHIGAMI, T.; HARA, Y. Effect of tea polyphenols on glucan synthesis by glucosyl transferase from *Streptococcus mutans*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, v. 38, p. 717-720, 1990.
- HEMINGWAY, R.W.; FOO, L.Y.; PORTER, L.J. Linkage isomerism in trimeric and polymeric 2,3-*cis*-procyanidins. *Journal of the Chemical Society, Perkin Trans. I*, p. 1209-1216, 1982.
- HEMINGWAY, R.W. Structural variations in proanthocyanidins and their derivatives. In: HEMINGWAY, R.W.; KARCHESY, J.J.; BRANHAM, S.J. (ed.). *Chemistry and Significance of Condensed Tannins*. New York: Plenum, 1989. p. 83.
- HESS, R.L.; GREINERT, J.A.; BARARDI, C.R.M.; MELLO, J.C.P. de; SIMÕES, C.M.O. Antitherpes activity of phenolic compounds. *Journal of the Brazilian Society of Virology*, v. 4, Supl., p. 92, 1999.
- HUGHES-FORMELLA, B.J.; BOHNSACK, K.; RIPPKE, F.; BENNER, G.; RUDOLPH, M.; TAUSCH, I.; GASSMUELLER, J. Anti-inflammatory effect of hamamelis lotion in a UVB erythema test. *Dermatology*, v. 196, n. 3, p. 316-322, 1998.
- INOUE, K.H.; HAGERMAN, A.E. Determination of gallotannins with rhodamine. *Analytical Biochemistry*, v. 169, p. 363-369, 1988.
- ISOBE, R.; TANAKA, T.; NONAKA, G.; NISHIOKA, I. A new method for structural study of hydrolysable tannins by negative ion fast bombardment mass spectrometry. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, v. 37, p. 1748-1750, 1989.
- KARCHESY, J.J.; HEMINGWAY, R.W.; FOO, Y.L.; BAROFSKY, E.; BAROFSKY, D.F. Sequencing procyanidin oligomers by fast atom bombardment mass spectrometry. *Analytical Chemistry*, v. 58, p. 2563-2567, 1986.
- KAWAMOTO, H.; NAKATSUBO, F.; MURAKAMI, K. Stoichiometric studies of tannin-protein co-precipitation. *Phytochemistry*, v. 41, p. 1427-1431, 1996.
- KENNEDY, J.A.; JONES, G.P. Analysis of proanthocyanidin cleavage products following acid-catalysis in the presence of excess phloroglucinol. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, v. 49, p. 1740-1746, 2001.
- KUJOA, A.; GIESBRECHT, A.M.; GOTTLIEB, O.R.; GOTTLIEB, H.E. 1,3-diaryl-

- propanes and propan-2-ols from *Virola* species. *Phytochemistry*, v. 20, p. 1385-1388, 1981.
- KOLODZIEJ, H. Synthesis and characterization of procyanidins dimers as their peracetates and octamethyl ether diacetates. *Phytochemistry*, v. 25, p. 1209-1215, 1986.
- KOLODZIEJ, H.; FERREIRA, D.; LEMIERRE, G.; DE BRUYNE, T.; PIETERS, L.; VLIETINCK, A. On the nomenclature of oligoflavonoids with an A-type unit. *Journal of Natural Products*, v. 56, p. 1199-1200, 1993.
- KOMMISSION E. Bundesanzeiger n° 43 de 02.03.1989. *Liste der Monographien*. Bundesgesundheitsamt. Institut für Arzneimittel, 1994.
- KORTING, H.C.; SCHAEFER-KORTING, M.; HART, H.; LAUX, P.; SCHMID, M. Anti-inflammatory activity of *Hamamelis* distillate applied topically to the skin influence of vehicle and dose. *European Journal of Clinical Pharmacology*, v. 44, n. 4, p. 315-318, 1993.
- LABARBE, L.; CHEYNIER, V.; BROUSSARD, F.; SOUQUET, J.M.; MOUTOUNET, M. Quantitative fractionation of grape proanthocyanidins according to their degree of polymerization. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, v. 47, p. 2719-2723, 1999.
- LAZARUS, S.A.; ADAMSON, G.E.; HAMMERSTONE, J.F.; SCHMITZ, H.H. High-performance liquid chromatography/mass spectrometry analysis of proanthocyanidins in foods and beverages. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, v. 47, p. 3693-3701, 1999.
- LEE, M.H.; NISHIMOTO, S.; YANG, L.L.; YEN, K.Y.; HATANO, T.; YOSHIDA, T.; OKUDA, T. Two macrocyclic hydrolysable tannin dimers from *Eugenia uniflora*. *Phytochemistry*, v. 44, n. 7, p. 1343-1349, 1997.
- LEE, M.-H.; CHIOU, J.-F.; YEN, K.-Y.; YANG, L.-L. EBV DNA polymerase inhibition of tannins from *Eugenia uniflora*. *Cancer Letters*, v. 154, p. 131-136, 2000.
- LIMA, E.O.; GOMPERTZ, O.F.; GIESBRECHT, A.M.; PAULO, M.Q. In-vitro antifungal activity of essential oils obtained from officinal plants against dermatophytes. *Mycoses*, v. 36, n. 9-10, p. 333-336, 1993.
- LIMA, J.C.S.; MARTINS, D.T.O.; SOUZA Jr., P.T. Experimental evaluation of stem bark of *Stryphnodendron adstringens* (Martius) Coville for antiinflammatory activity. *Phytotherapy Research*, v. 12, p. 218-220, 1998.
- LUCK, G.; LIAO, H.; MURRAY, N.J.; GRIMER, H.R.; WARMINSKI, E.E.; WILLI-ANSON, M.P.; LILLEY, T.H.; HASLAM, E. Polyphenols, astringency and proline rich proteins. *Phytochemistry*, v. 37, p. 357-371, 1994.
- MACKAY, D. Hemorrhoids and varicose veins: a review of treatment options. *Alternative Medicine Review*, v. 6, n. 2, p. 126-140, 2001.
- MARSTON, A.; HOSTETTMANN, K. Plant molluscicides. review. *Phytochemistry*, v. 24, p. 639-652, 1985.
- MARTINS, A.G. *A influência de fatores tecnológicos na avaliação analítica e farmacológica de extratos secos nebulizados de Maytenus ilicifolia Martius ex Reiss.* Porto Alegre: Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, 1998. Dissertação de Mestrado.
- MARWAN, A.G.; NAGEL, C.W. Microbial inhibitors of cranberries. *Journal of Food Science*, v. 51, p. 1009-1013, 1986.
- MASAKI, H.; ATSUMI, T.; SAKURAI, H. Hamamelitannin as a new potent active oxygen scavenger. *Phytochemistry*, v. 37, n. 2, p. 337-343, 1994.

- MASAKI, H.; ATSUMI, T.; SAKURAI, H. Protective activity of hamamelitannin on cell damage of murine skin fibroblasts induced by UVB irradiation. *Journal of Dermatological Sciences*, v. 10, n. 1, p. 25-34, 1995.
- MATHEWS, S.; MILA, I.; SCALBERT, A.; POLLET, B.; LAPIERRE, C.; HERVÉ DU PENHOAT, C.L.M.; ROLANDO, C.; DONNELLY, D.M.X. Method for estimation of proanthocyanidins based on their acid depolymerization in the presence of nucleophiles. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, v. 45, p. 1195-1201, 1997.
- MCMANUS, J.P.; DAVIS, K.G.; BEART, J.E.; GAFFNEY, S.H.; LILLEY, T.H.; HASLAM, E. Polyphenol interactions. Part 1. Introduction; some observations on the reversible complexation of polyphenols with proteins and polysaccharides. *Journal of the Chemical Society, Perkin Trans. II*, p. 1429-1438, 1985.
- MELLO, J.C.P.; PETEREIT, F.; NAHRSTEDT, A. Flavan-3-ols and prodelphinidins from *Stryphnodendron adstringens*. *Phytochemistry*, v. 41, n. 3, p. 807-813, 1996a.
- MELLO, J.C.P.; PETEREIT, F.; NAHRSTEDT, A. Prorobinetinidins from *Stryphnodendron adstringens*. *Phytochemistry*, v. 42, n. 3, p. 857-862, 1996b.
- MELLO, J.C.P.; PETEREIT, F.; NAHRSTEDT, A. A dimeric proanthocyanidin from *Stryphnodendron adstringens*. *Phytochemistry*, v. 51, p. 1105-1107, 1999.
- MELZER, R. *Untersuchungen zur Analytik und kardiovaskulären Wirkungen der oligomeren Procyanidine von Hypericum perforatum L.* Marburg: Institut für Pharmazeutische Biologie, Philipps-Universität Marburg (Lahn), 1990. 221p. Tese (Doutorado Ciências Naturais).
- MILA, I.; SCALBERT, A.; EXPERT, D. Iron withholding by plant polyphenols and resistance to pathogens and rots. *Phytochemistry*, v. 42, p. 1551-1555, 1996.
- MITCHELL, J.C.; ROOK, A. (ed.). *Botanical dermatology*. Vancouver: Greengrass, 1979.
- MOLE, S. The systematic distribution of tannins in the leaves of angiosperms: a tool for ecological studies. *Biochemical Systematic and Ecology*, v. 21, p. 833-846, 1993.
- MOLE, S.; WATERMAN, P.G. Tannins as antifeedants to mammalian herbivores-still an open question. Allelochemicals: Role in Agriculture and Forestry. In: SYMPOSIUM SERIES 330 OF THE AMERICAN CHEMISTRY SOCIETY, 1987. Washington. *Resumos...*, Washington: Waller, p. 572-587, 1987a.
- MOLE, S. e WATERMAN, P.G. A critical analysis of techniques for measuring tannins in ecological studies. I. Techniques for chemically defining tannins. *Oecologia*, v. 72, p. 137-147, 1987b.
- MORAIS, S.M.; CRAVEIRO, A.A.; MACHADO, M.I.L.; ALENCAR, J.W.; MATOS, F.J.A. Volatile constituents of *Eugenia uniflora* leaf oil from Northeastern Brazil. *Journal of Essential Oil Research*, v. 8, n. 4, p. 449-451, 1996.
- MOURE, A.; CRUZ, J.M.; FRANCO, D.; DOMINGUEZ, J.M.; SINERO, J.; DOMINGUEZ, H.; NUNEZ, M.J.; PARAJÓ, J.C. Natural antioxidants from residual sources. *Food Chemistry*, v. 72, p. 145-171, 2001.
- MUELLER-HARVEY, I. Analysis of hidrolizable tannins. *Animal Feed Science and Technology*, v. 91, p. 3-20, 2001.
- NAKAHARA, K.; KAWABATA, S.; ONO, H.; OGURA, K.; TANAKA, T.; OOSHIMA, T.; HAMADA, S. Inhibitory effect of oolong tea polyphenols on glycosyltransferases of mutants *Streptococci*. *Applied Environmental Microbiology*, v. 59, p. 968-973, 1993.

- NEVES, M. do C.L.C.; JORGE NETO, J.; IFA, D.R.; FRACASSO, J.F.; LEPERA, E.Z.P.; SILVA, R.F.P. Estudo dos efeitos farmacológicos produzidos pelos extratos aquosos de hamamelis e barbatimão. In: REUNIÃO ANUAL DA FEDERAÇÃO DE SOCIEDADES DE BIOLOGIA EXPERIMENTAL, 7, 1992, Caxambu. *Resumos...*, Caxambu: Hotel Glória, 1992a.
- NEVES, M. do C.L.C.; JORGE NETO, J.; IFA, D.R.; FRACASSO, J.F.; SILVA, R.F.P.; LEPERA, E.Z.P. Estudo dos efeitos farmacológicos de hamamelis e barbatimão. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 12, 1992, Curitiba. *Resumos...*, Curitiba: Universidade Federal do Paraná, 1992b.
- NONAKA, G.-I.; NISHIMURA, H.; NISHIOKA, I. Tannins and related compounds. Part 26. Isolation and structures of stenophyllanins A, B, and C, novel tannins from *Quercus stenophylla*. *Journal of the Chemical Society, Perkin Trans. I*, p. 163-172, 1985.
- OHNISHI-KAMEYAMA, M.; YANAGIDA, A.; KANDA, T.; NAGATA, T. Identification of catechin oligomers from apple (*Malus pumila* cv. fuji) in matrix-assisted laser desorption/ionisation time-of-flight mass spectrometry and fast-atom bombardment mass spectrometry. *Rapid Communication in Mass Spectrometry*, v. 11, p. 31-36, 1997.
- OKUDA, T.; YOSHIDA, T.; HATANO, T.; KOGA, T.; TOH, N.; KURIYAMA, K. Circular dichroism of hydrolysable tannins - I. Ellagitannins and gallotannins. *Tetrahedron Letters*, v. 23, p. 3937-3940, 1982.
- OKUDA, T.; YOSHIDA, T.; HATANO, T.; YAZAKI, K.; Ikegami, Y.; SHINGU, T. Guavins A, C and D, complex tannins from *Psidium guajava*. *Chemical Pharmaceutical Bulletin*, v. 35, p. 443-446, 1987.
- OKUDA, T.; YOSHIDA, T.; HATANO, T. New methods of analyzing tannins. *Journal of Natural Products*, v. 52, p. 1-31, 1989.
- OKUDA, T.; YOSHIDA, T.; HATANO, T. Classification of oligomeric hydrolysable tannins and specificity of their occurrence in plants. *Phytochemistry*, v. 32, p. 507-521, 1993.
- OOSHIMA, T.; MINAMI, T.; AONO, W.; IZUMATANI, A.; SOBUE, S.; FIJIWARA, T.; KAWABATA, S.; HAMADA, S. Oolong tea polyphenols inhibit experimental dental caries in SPF rats infected with *Streptococcus mutans*. *Caries Research*, v. 27, p. 124-129, 1993.
- OSSIPOV, V.; LAPONEN, J.; OSSIPOVA, S.; HAUKIOJA, E.; PIHLAJA, K. Gallo-tannins of birch *Betula pubescens* leaves: HPLC separation and quantification. *Biochemistry Systematic and Ecology*, v. 25, p. 493-504, 1997.
- PORTER, L.J. Flavans and proanthocyanidins. In: HARBORNE, J.B. (ed.). *The Flavonoids: Recent advances since 1980*. London: Chapman & Hall, 1988. p. 21.
- PORTER, L.J.; HEMINGWAY, R.W. Significance of the condensed tannins. In: ROWE, J.W. (ed.). *Natural Products of Woody Plants*. Berlin: Springer, 1989. v. 2, p. 988-1027.
- PORTER, L.J. Condensed tannins. In: ROWE, J.W. (ed.). *Natural Products of Woody Plants I*. Berlin: Springer, 1989. p. 651.
- RAKOTOARISON, D.A.; GRESSIER, B.; TROTIN, F.; BRUNET, C.; DINE, T.; LUYCKX, M.; VASSEUR, J.; CAZIN, M.; CAZIN, J.C.; PINKAS, M. Antioxidant activities of polyphenolic extracts from flowers, *in vitro* callus and cell suspension cultures of *Crataegus monogyna*. *Pharmazie*, v. 52, n.1, p. 60-64, 1997.
- RAMOS, M.F.S.; SANTOS, E.P.; BIZARRI, C.H.B.; MATTOS, H.A.; PADILHA,

- M.R.S.; DUARTE, H.M. Preliminary studies towards utilization of various plant extracts antisolar agents. *International Journal of Cosmetic Science*, v. 18, n. 3, p. 87-101, 1996.
- RIETBROCK, N.; STAIB, A.H.; LOEW, D. (Hrsg.) *Klinische Pharmacologie*. 3. überarb erw. Aufl., Darmstadt: Steinkopf, 1996.
- RIMPLER, H. *Biogene Arzneistoffe*. Stuttgart: Georg Thieme, 1990. p. 236-244.
- SAKANAKA, S.; AIZAWA, M.; KIM, M.; YAMAMOTO, T. Inhibitory effects of green tea polyphenols on growth and cellular adherence of oral bacterium, *Porphyromonas gingivalis*. *Biosciences Biotechnology and Biochemistry*, v. 60, n. 5, p. 745-749, 1996.
- SALMINEN, J.-P.; OSSIPOV, V.; HAUKIOJA, E.; PIHLAJA, K. Seasonal variation in the content of hydrolysable tannins in leaves of *Betula pubescens*. *Phytochemistry*, v. 57, p. 15-22, 2001.
- SANTOS, S.C.; WESLEY, F.C.; RIBEIRO, J.P.; GUIMARÃES, D.O.; FERRI, P.H.; FERREIRA, H.D.; SERAPHIN, J.C. Tannin composition of barbatimão species. *Fitoterapia*, v. 73, n. 4, p. 292-299, 2002.
- SCALBERT, A. Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry*, v. 30, p. 3875-3883, 1991.
- SCHAPOVAL, E.E.S.; SILVEIRA, S.M.; MIRANDA, M.L.; ALICE, C.B.; HENRIQUES, A.T. Evaluation of some pharmacological activities of *Eugenia uniflora* L. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 44, n. 3, p. 137-142, 1994.
- SCHILLING, G.; KELLER, A. Monogalloylhamamelose from *Hamamelis virginiana*. *Zeitung für Naturforschung Sect. C. J. Biosci.*, v. 41, n. 3, p. 253-257, 1986.
- SCHMEDA-HIRSCHMANN, G.; THEODULOZ, C.; FRANCO, L.; FERRO, B.E.; DE ARIAS, A.R. Preliminary pharmacological studies on *Eugenia uniflora* leaves xanthine oxidase inhibitory activity. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 21, n. 2, p. 183-186, 1987.
- SCHNEIDER, G. *Arzneidrogen-ein Kompendium für Pharmazeuten, Biologen und Chemiker*. Mannheim: Wissenschaft, 1990. Kap. 24, p. 174-180.
- SCHOFIELD, P.; MBUGUA, D.M.; PELL, A.N. Analysis of condensed tannins: a review. *Animal Feed Science and Technology*, v. 91, p. 21-40, 2001.
- SCHOLZ, E. Pflanzliche Gerbstoffe: Pharmakologie und Toxikologie. *Deutsche Apotheker Zeitung*, v. 134, n. 34, p. 3167-3179, 1994.
- SCHOLZ, E.; RIMPLER, H. Proanthocyanidins from *Krameria triandra* root. *Planta Medica*, v. 55, n. 4, p. 379-384, 1989.
- SEIGLER, D.S.; SEILHEIMER, S.; KEESY, J.; HUANG, H.F. Tannins from four common *Acacia* species of Texas and northern Mexico. *Economic Botanic*, v. 40, p. 220-232, 1986.
- SINGLETON, V.L. Tannins and the qualities of wines. In: HEMINGWAY, R.W. e LAKS, P.E. (ed.). *Plant Polyphenols*. New York: Plenum, 1992. p. 859-880.
- SINGLETON, V.L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENÓS, R.M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, v. 299, p. 152-178, 1999.
- SOARES, L. A. L. *Obtenção de comprimidos contendo alto teor de produto seco por aspersão de Maytenus ilicifolia Mart. ex Reissek – Celastraceae. Desenvolvimento tecnológico de produtos intermediários e final*. Porto Alegre: Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, 2002. Tese de Doutorado.
- STICHER, O. Phenolische Verbindungen. In: HÄNSEL, R.; STICHER, O.; STEINEG-

- GER, E. (Hrsgb.) *Pharmakognosie – Phytopharmazie*. Berlin: Springer, 1999. Kap. 7. p. 771-934.
- TAKAHASHI, T.; KAMIYA, T.; YOKOO, Y. Proanthocyanidins from grape seeds promote proliferation of mouse hair follicle cells *in vitro* and convert hair cycle *in vivo*. *Acta Dermatologica et Venereologica*, v. 78, p. 428-432, 1998.
- TAKAHASHI, T.; KAMIYA, T.; HASEGAWA, A.; YOKOO, Y. Procyanidin oligomers selectively and intensively promote proliferation of mouse hair epithelial cells *in vitro* and activate hair follicle growth *in vivo*. *Journal of Investigation in Dermatology*, v. 112, p. 310-316, 1999.
- TANIGUCHI, S.; IMAYOSHI, Y.; YABU-UCHI, R.; ITO, H.; HATANO, T.; YOSHIDA, T. A macrocyclic ellagitannin trimer, oenotherin T₁, from *Oenothera* species. *Phytochemistry*, v. 59, p. 191-195, 2002.
- THOMPSON, R.S.; JACQUES, D.; HASLAM, E.; TANNER, R.J.N. Plant proanthocyanidins. Part I. Introduction; the isolation, structure, and distribution in nature of plant procyanidins. *Journal of the Chemical Society, Perkin Trans. I*, p. 1387-1399, 1972.
- TUNON, H.; OLAVSDOTTER, C.; BOHLIN, L. Evaluation of anti-inflammatory activity of some Swedish medicinal plants. Inhibition of prostaglandin biosynthesis and PAF-induced exocytosis. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 48, n. 2, p. 61-76, 1995.
- WAAGE, S.K.; HEDIN, P.A.; GRIMLEY, E. A biologically-active procyanidin from *Machaerium floribundum*. *Phytochemistry*, v. 23, p. 2785-2787, 1984.
- WAGNER, H. *Pharmazeutische Biologie: Drogen und ihre Inhaltsstoffe*. 4 Aufl. Stuttgart: Gustav Fischer, 1988. p. 245-246.
- WANG, C.-C.; CHEN, L.-G.; YANG, L.-L. Antitumor activity of four macrocyclic ellagitannins from *Cuphea hyssopifolia*. *Cancer Letters*, v. 140, p. 195-200, 1999.
- WATERMAN, P.G.; MOLE, S. *Analysis of Phenolic Plant Metabolites*. Oxford: Blackwell Scientific, 1994.
- WAZLAWIK, E.; DA SILVA, M.A.; PETERS, R.R.; CORREIA, J.F.; FARIAS, M.R.; CALIXTO, J.B.; RIBEIRO, R.M.V. Analysis of the role of nitric oxide in the relaxant effect of the crude extract and fractions from *Eugenia uniflora* in the rat thoracic aorta. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, v. 49, n. 4, p. 433-437, 1997.
- WEYERSTAHL, P.; MARSCHALL-WEYERSTAHL, H.; CHRISTIANSEN, C.; OGUNTMEIN, B.O.; ADEOYE, A.O. Volatile constituents of *Eugenia uniflora* leaf oil. *Planta Medica*, v. 54, n. 6, p. 546-549, 1988.
- WILLIS, R.B.; ALLEN, P.R. Improved method for measuring hydrolysable tannins using potassium iodate. *Analyst*, v. 123, p. 435-439, 1998.
- WEINGES, K.; KALTENHÄUSER, W.; MARX, H.-D.; NADER, E.; NADER, F.; PERNER, J.; SEILER, D. Procyanidine aus Früchten. *Liebigs Annalen der Chemie*, v. 711, p. 184-204, 1968a.
- WEINGES, K.; GÖRITZ, K.; NADER, F. Zur Kenntnis der Proanthocyanidine, XI Konfigurationsbestimmung von C₃₀H₂₆O₁₂-Procyanidinen und Strukturauflösung eines neuen Procyanidins. *Liebigs Annalen der Chemie*, v. 715, p. 164-171, 1968b.
- WILSON, T.C.; HAGERMAN, A.E. Quantitative determination of ellagic acid. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, v. 38, p. 1678-1683, 1990.

- WORLD Health Organization, *Quality Control Methods for Medicinal Plant Materials*. Geneva: WHO/Pharm/92.559, 1992. p. 35.
- YOSHIDA, T.; HATANO, T.; OKUDA, T.; MEMON, M.U.; SHINGU, T.; INOUE, K. Spectral and chromatographic analyses of tannins. I. ^{13}C Nuclear Magnetic Resonance spectra of hydrolysable tannins. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, v. 32, p. 1790-1799, 1984.
- YOSHIDA, T.; CHOU, T.; MATSUDA, M.; YASUHARA, T.; YAZAKI, K.; HATANO, T.; NITTA, A.; OKUDA, T. Woodfordin D and oenothetin A, trimeric hydrolysable tannins of macro-ring structure with antitumor activity. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, v. 39, p. 1157-1162, 1991.
- YOSHIDA, T.; HATANO, T.; KUWAJIMA, T.; OKUDA, T. Oligomeric hydrolysable tannins – their ^1H NMR spectra and partial degradation. *Heterocycles*, v. 33, p. 463-483, 1992.
- YOSHIDA, T.; CHOU, T.; SHINGU, T.; OKUDA, T. Oenothetins D, F and G, hydrolysable tannins dimers from *Oenothera lacinata*. *Phytochemistry*, v. 40, p. 555-561, 1995.
- ZHU, M.; PHILLIPSON, J.D.; GREENGRASS, P.M.; BOWERY, N.E.; CAI, Y. Plant polyphenols: biologically active compounds or non-selective binders to proteins? *Phytochemistry*, v. 44, p. 441-447, 1997.

12. SUGESTÕES PARA LEITURA:

Isolamento, purificação e elucidação estrutural de taninos

- OKUDA, T.; YOSHIDA, T.; HATANO, T. New methods of analyzing tannins. *Journal of Natural Products*, v. 52, p. 1-31, 1989.
- HAGERMAN, A.E. *Tannin Chemistry*. 2001. Disponível na Internet no site <http://users.muohio.edu/hagermae>, capturado como *tannins.pdf* em 6.7. 2002.

Métodos de análises de taninos

- WATERMAN, P.G.; MOLE, S. *Analysis of Phenolic Plant Metabolites*. Oxford: Blackwell Scientific, 1994.
- HAGERMAN, A.E. *Tannin Chemistry*. 2001. Disponível na Internet no site <http://users.muohio.edu/hagermae>, capturado como *tannins.pdf* em 6.7. 2002.
- MUELLER-HARVEY, I. Analysis of hydrolysable tannins. *Animal Feed Science and Technology*, v. 91, p. 3-20, 2001.
- SCHOFIELD, P.; MBUGUA, D.M.; PELL, A.N. Analysis of condensed tannins: a review. *Animal Feed Science and Technology*, v. 91, p. 21-40, 2001.

Taninos e complexação com proteínas e farmacologia de taninos

- HASLAM, E. *Practical polyphenols – from structure to molecular recognition and physiological action*. Cambridge: Cambridge University, 1998. 422 p.

Artigos de Revisão

- CLIFFORD, M.N.; SCALBERT, A. Review ellagitannins – nature, occurrence and dietary burden. *Journal of Science of Food Agriculture*, v. 80, p. 1118-1125, 2000.

- FERREIRA, D.; BEKKER, R. Oligomeric proanthocyanidins: naturally occurring O-heterocycles. *Natural Products Report*, v. 13, p. 411-433, 1996.
- FERREIRA, D.; LI, X.-C. Oligomeric proanthocyanidins: naturally occurring O-heterocycles. *Natural Products Report*, v. 17, p. 193-212, 2000.

QUINONAS

AUTOR

Miriam de Barcellos Falkenberg

SUMÁRIO DO CAPÍTULO

1. Introdução
2. Terminologia e classificação
3. Características químicas
4. Biogênese
5. Ocorrência e distribuição
6. Obtenção e análise
7. Atividades farmacológicas e biológicas
8. Utilização industrial e emprego farmacêutico
9. Relação estrutura-atividade, mecanismo de ação e efeitos adversos de derivados antracênicos
10. Drogas vegetais clássicas
11. Referências bibliográficas
12. Sugestões para leitura

1. INTRODUÇÃO

Quinonas são compostos orgânicos que podem ser considerados como produtos da oxidação de fenóis; da mesma forma, a redução de quinonas pode originar os correspondentes fenóis. Sua principal característica é a presença de dois grupos carbonílicos que formam um sistema conjugado com pelo menos duas ligações duplas C-C. Apenas algumas nafto-, antra- e fenantraquinonas podem ser classificadas como substâncias com caráter aromático. As *o*- e *p*-quinonas são 1,2- e 1,4-dicetonas cíclicas conjugadas; *m*- ou 1,3-quinonas não existem.

Desde a antiguidade, plantas contendo quinonas têm sido usadas por suas atividades biológicas ou como fonte de corantes naturais (Thomson, 1971). A alizarina, uma antraquinona obtida das raízes de *Rubia tinctorum* L. (Rubiaceae) já era conhecida e usada no antigo Egito, Pérsia e Índia (Budavani, 1996). Essa planta foi um dos primeiros materiais corantes usados pelo homem, que a utilizava também na sua dieta alimentar e como alimento para os animais. Os ossos desses animais adquiriam coloração púrpura-avermelhada, pela capacidade de ligação da alizarina ao tecido em calcificação (Thomson, 1987).

Nos últimos anos, quinonas apresentando diversas atividades biológicas importantes foram isoladas, como a naftoquinona trimérica cono-curvona (de *Conospermum incurvum* Lindl., Proteaceae), que apresenta atividade inibitória da replicação do vírus HIV (Decosterd et al., 1993) e

naftoquinonas de *Avicennia*, que demonstraram potente atividade quimioprotetora contra carcinogênese (Itoigawa et al., 2001). Assim, estas e outras substâncias do grupo podem vir a tornar-se no futuro novas alternativas na terapia e prevenção de diversas enfermidades.

2. TERMINOLOGIA E CLASSIFICAÇÃO

A unidade quinóide (1,4-dicetociclohexa-2,5-dieno ou 1,2-dicetociclohexa-3,5-dieno) ocorre com relativa abundância em substâncias de origem biológica. A nomenclatura de quinonas é definida pelo esqueleto do anel aromático, estabelecendo-se as posições dos dois grupos carbonílicos na molécula (1,2- ou *orto*-, 1,4- ou *para*-) e acrescentando-se o sufixo quinona (Van der Vijver, 1975).

Em função do tipo de ciclo no qual o sistema de ligas duplas e cetonas conjugadas está inserido, tem-se os três grupos principais de quinonas, nos quais se enquadra a maioria dos compostos conhecidos atualmente: *benzo*-, *nafto*- e *antraquinonas*. Também são encontradas na natureza quinonas terpênicas e policíclicas de estrutura mais complexa, como as diterpenoquinonas com esqueleto do tipo abietano (derivadas de fenantrenoquinonas com diferentes graus de insaturação, frequentes em *Lamiaceae*) e os pigmentos policíclicos relacionados com a hipericina, encontrados em *Hypericaceae* (fi-

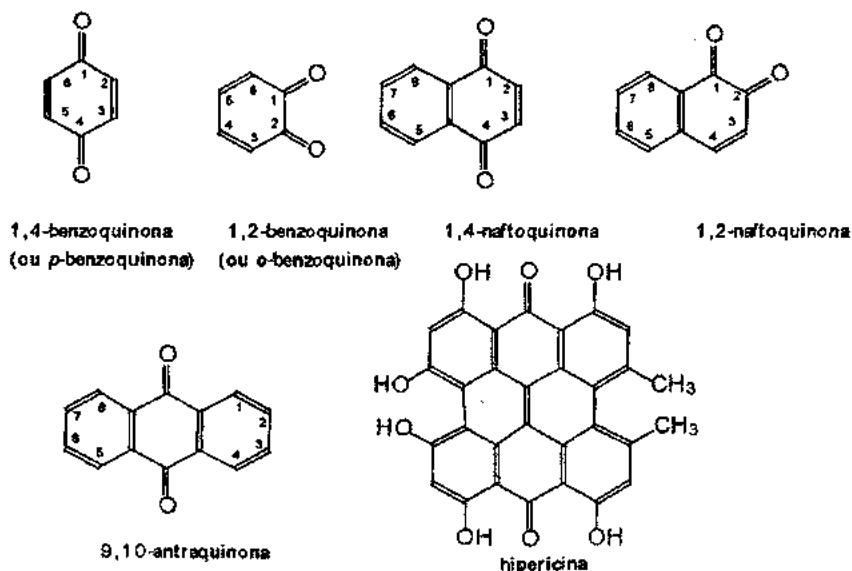


Figura 1. Estruturas básicas de quinonas

gura 1). Nesta última, a função quinona se encontra em uma forma estendida, com as duas carbonilas em anéis diferentes e unidas por uma série de ligas duplas conjugadas (Van der Vijver, 1975; Van den Berg e Labadie, 1989).

Tratar-se-á aqui majoritariamente das antraquinonas pelo seu maior número na natureza e pela sua importância farmacêutica.

3. CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS

3.1. Formas reduzidas e oxidadas de antraquinonas

Para o grupo de substâncias denominadas genericamente *antraquinonas* encontram-se na literatura também outras denominações como *antranóides*, *derivados antracênicos* ou *derivados hidroxiantracênicos* (Steinegger e Hänsel, 1988). Os derivados contidos nas drogas vegetais secas apresentam-se geralmente num estado mais oxidado do que as substâncias desse grupo presentes originalmente na planta fresca. As antronas e antranóis são os primei-

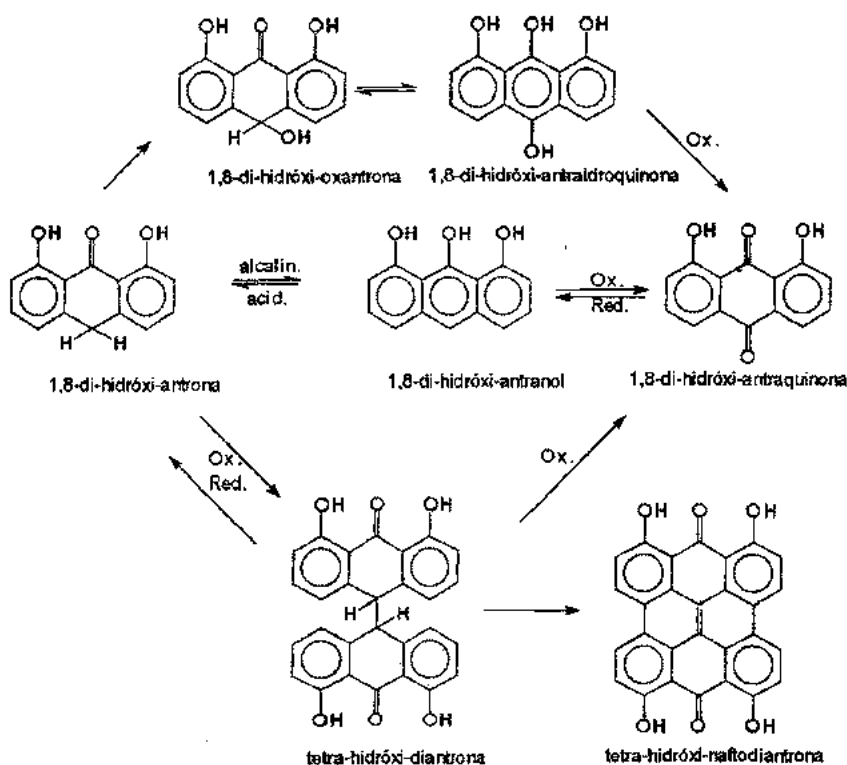


Figura 2. Inter-relação entre formas oxidadas e reduzidas dos derivados antracênicos

ros derivados antranóides que se formam nas plantas, possuem função oxigenada apenas no C-9 e a maioria ocorre na natureza na forma de glicosídeos. As antraquinonas propriamente ditas são mais estáveis e são geralmente formadas a partir das antronas livres por auto-oxidação ou pela ação de enzimas próprias das plantas (peroxidases ou oxidases). As antronas também podem ser transformadas nas correspondentes diantronas e naftodiantronas (figura 2), sendo estas últimas desprovidas de ação laxante (Gros et al., 1985).

3.2. Variações estruturais e ocorrência na forma de heterosídeos

Nos derivados antracênicos são característicos os grupos hidroxilas em C-1 e C-8, bem como o grupo cetônico em C-9 e C-10. Grupamentos metila, metoxila e carboxila podem estar presentes em C-3 e um grupo hidroxila ou metoxila, em C-6 (figura 3). A maioria das substâncias deste grupo apresenta-se originalmente como O-glicosídeos, ocorrendo esta ligação glicosídica sobretudo nos grupamentos hidroxila presentes nos carbonos C-1, C-8 ou C-6. Os C-glicosídeos são derivados das antronas, sendo a ligação C-C sempre em C-10. Tanto O- como C-glicosídeos (figura 3a) podem ser formados a partir de glicose, ramnose ou apiose (Wagner, 1988).

3.3. Propriedades físico-químicas e reatividade dos derivados antracênicos

Quinonas apresentam-se geralmente como substâncias cristalinas de cor amarela a vermelha, ocasionalmente, podem ter cores azul, verde ou mesmo preta. Sua contribuição para a coloração natural dos organismos que as contêm é, entretanto, pequena, se comparada com a das antocianinas e dos carotenóides (Thomson, 1971). As antronas e antranóis são geralmente amarelados, enquanto as antraquinonas propriamente ditas têm cor laranja ou vermelha e as naftodiantronas, coloração violeta-avermelhada.

A estrutura quinóide condiciona uma alta reatividade química e as quinonas são agentes fortemente oxidantes em processos que, por exemplo, reduzem a 1,4-benzoquinona à hidroquinona 3b (figura 3). Essas reações de oxirredução são responsáveis pelo papel importante das quinonas como carreadores de elétrons nos processos metabólicos das células. Assim, as atividades e propriedades das quinonas baseiam-se primariamente em sua capacidade de interagirem com sistemas redox ou de transferir elétrons em ambientes físico ou biológico; essa condição é provavelmente modificada pela presença de substituintes no(s) anel(éis) (Van den Berg e Labadie, 1989).

Entre os derivados antracênicos, as antraquinonas são as mais estáveis; antronas e diantronas são relativamente estáveis em soluções aquosas acidificadas, mas na presença de álcalis são rapidamente oxidadas a antraquinonas (Auterhoff et al., 1994).

Em meio alcalino, as quinonas hidroxiladas transformam-se nos ânions

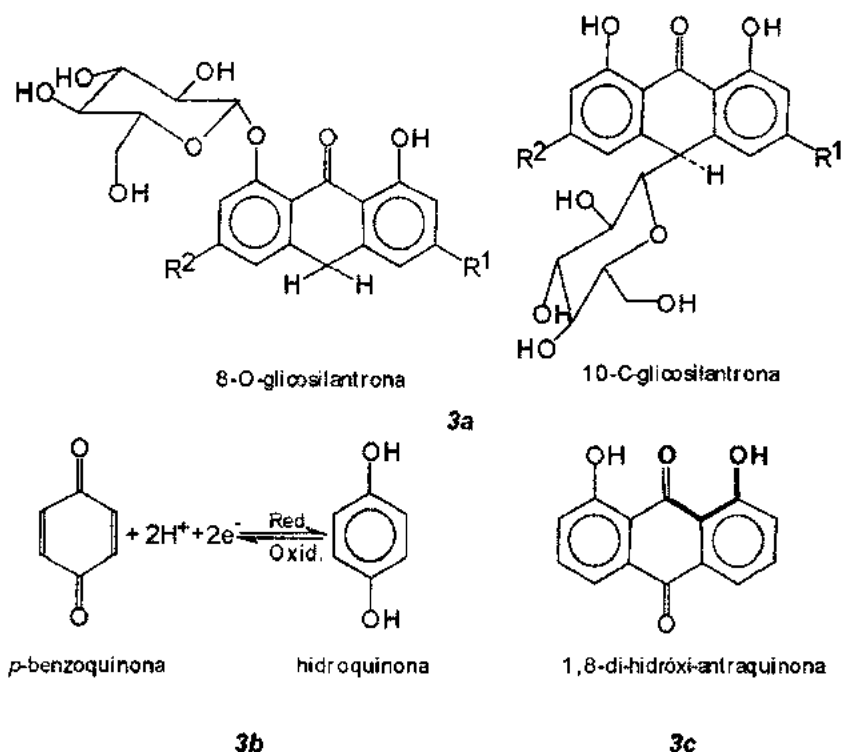


Figura 3. Características de derivados antracênicos: exemplo de O- e C-glicosídeos (3a), inter-conversão entre quinonas e os correspondentes fenóis por oxi-redução (3b) e estrutura viníloga de ácido carboxílico apresentada pelas 1,8-di-hidróxi-antraquinonas (3c).

fenolatos correspondentes, os quais apresentam intensa coloração púrpura a violeta. Os grupos hidroxilas localizados nos carbonos C-1 e C-8 das antraquinonas têm uma acidez comparável àquela dos ácidos orgânicos, por constituírem uma estrutura viníloga de ácido carboxílico (figura 3c). A alcalinização necessária para essa reação pode ser obtida inclusive com soluções de bases fracas como, por exemplo, hidróxido de amônio (Steinegger e Hänsel, 1988). Essa caracterização em meio alcalino é denominada reação de Bornträger e, geralmente, é utilizada para a detecção e identificação de compostos quinônicos, podendo-se também borrifar diretamente uma solução aquosa alcalina sobre a superfície de fragmentos do vegetal, para caracterizar a presença de derivados hidroxiantracênicos (Van der Vijver, 1975).

4. BIOGÊNESE

As quinonas de plantas superiores são sintetizadas através de várias rotas metabólicas. Os derivados hidroxiantracênicos podem ser formados a partir de unidades provenientes de acetil- ou malonilcoenzima A (figura 4) ou a partir do ácido *o*-succinilbenzóico, como também são sintetizadas as naftoquinonas: filoquinona, juglona e lausona. Outras naftoquinonas, como a chiconina, são formadas a partir do ácido *p*-hidróxi-benzóico (Harborne e Turner, 1984; Van den Berg e Labadie, 1989). Maiores detalhes a respeito das principais vias metabólicas envolvidas na biogênese estão descritos no capítulo "Metabolismo básico e origem dos metabólitos secundários".

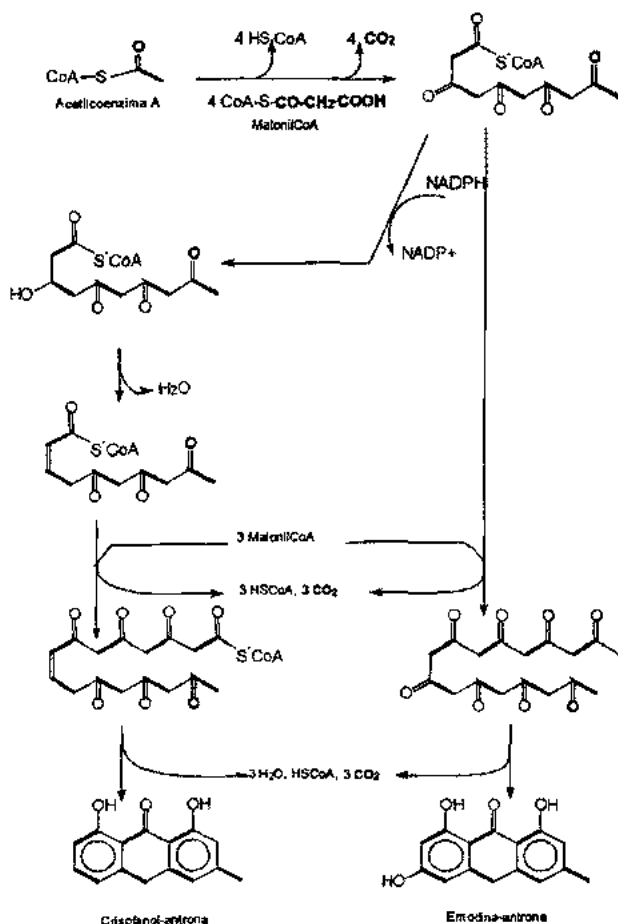


Figura 4. Esquema da biossíntese de antronas pela via acetato/malonato (Rimpler, 1990)

5. OCORRÊNCIA E DISTRIBUIÇÃO

Até o momento, são conhecidas na natureza mais de 1.500 quinonas, encontradas em bactérias, fungos, líquens, gimnospermas e angiospermas (Thomson, 1991). No reino animal também já foram encontradas quinonas em ouriços-do-mar e certos artrópodes como cochonilhas (insetos produtores do corante carmim) e os chamados besouros-bombardeadores (Thomson, 1971). Plastoquinonas e filoquinona (vitamina K₁) são metabólitos primários, presentes provavelmente em todos os tecidos que realizam fotossíntese, enquanto as ubiquinonas (como o nome já indica) têm sido encontradas na maioria das plantas e também em animais (Van den Berg e Labadie, 1989). As ubiquinonas e as naftoquinonas da série da vitamina K são exemplos de *bioquinonas* de ampla distribuição na natureza (figura 5a), participando da cadeia de transporte de elétrons na respiração celular procariótica e eucariótica (Van der Vijver, 1975).

Em plantas superiores, encontram-se antraquinonas sobretudo nas famílias Rubiaceae, Caesalpinaceae, Rhamnaceae, Polygonaceae, Liliaceae, Verbenaceae e Asphodelaceae. A maioria das naftoquinonas conhecidas ocorre em Bignoniaceae, Juglandaceae, Plumbaginaceae, Boraginaceae, Lythraceae, Ebenaceae e Droseraceae, entre outras famílias. As benzoquinonas tendem a

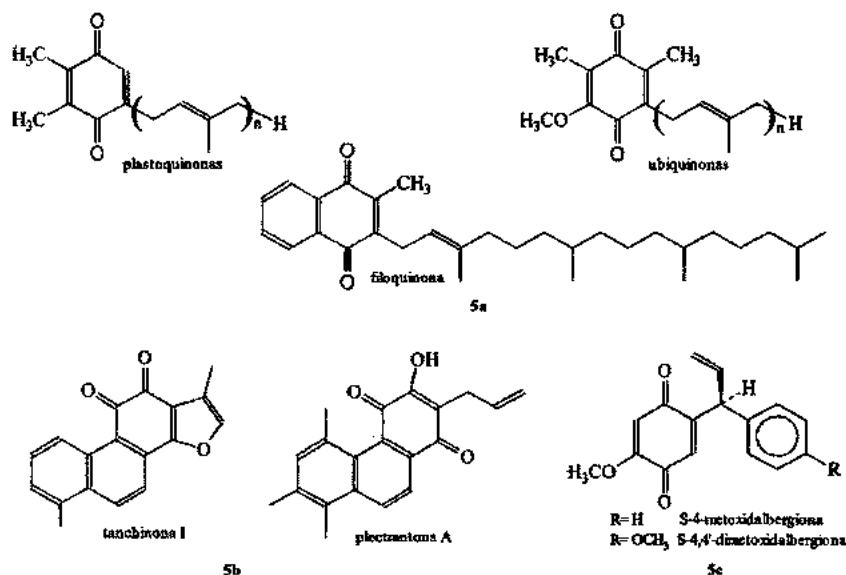


Figura 5. Exemplos de quinonas: estruturas com distribuição ampla na natureza (5a), diterpenoquinonas da família Lamiaceae (5b) e metóxi-dalbergionas (5c)

concentrar-se em plantas das famílias Myrsinaceae, Boraginaceae, Iridaceae e Primulaceae (Van den Berg e Labadie, 1989; Hegnauer e Hegnauer, 1994). Em diversos gêneros da família Lamiaceae, como por exemplo *Rosmarinus*, *Plectranthus* e *Salvia* encontram-se diterpenoquinonas com esqueleto do fenantreno (figura 5b), sendo essa ocorrência considerada uma característica quimiotaxonômica, principalmente para o gênero *Salvia* (Patudin et al., 1974).

Para Caesalpiniáceas, são típicas as antraquinonas do tipo emodina-crisofanol, embora benzoquinonas e outros tipos de quinona como os neoflavonóides de cadeia aberta derivados da dalbergiona (figura 5c) também tenham sido relatadas. Para a abordagem quimiotaxonômica dessa família e sobretudo dos gêneros *Cassia* e *Senna*, de difícil sistemática, as antraquinonas foram de grande importância (Hegnauer e Hegnauer, 1994).

6. OBTENÇÃO E ANÁLISE

6.1. Métodos de extração, purificação e isolamento

Clorofórmio e acetona são considerados bons solventes para a extração de quinonas, sendo o primeiro preferido quando se deseja obter quinonas poliméricas (di, tri ou tetrameros), empregando-se a maceração, percolação ou ainda sua combinação como métodos extrativos (Van der Vijver, 1975). A extração de quinonas a partir de material vegetal geralmente não apresenta problemas, já que a maioria dessas substâncias são quimicamente estáveis. Entretanto, o isolamento das formas reduzidas requer precauções especiais para evitar a sua oxidação. Nesse sentido, alguns procedimentos de extração em condições anaeróbicas, com uso de CO₂ sólido ou nitrogênio líquido têm sido relatados na literatura (Van den Berg e Labadie, 1989). Algumas quinonas como a 7-metiljuglona e as vismionas (*Vismia* spp., Hypericaceae), sobretudo aquelas com grupamento acetoxila no C-6, são particularmente instáveis e podem sofrer oxidação ou dimerização pelo contato com gel de sílica durante procedimentos cromatográficos. Também a extração com metanol pode levar à formação de artefatos metoxilados (por exemplo, 7-metiljuglona em solução metanólica a temperatura ambiente é convertida em 2- e 3-metóxi-derivados). A presença de amônia em extratos de espécies de *Aloe* leva à interconversão dos isômeros aloína A e B, que também podem sofrer decomposição. O isolamento e a purificação de quinonas são realizados geralmente através de cromatografia em coluna (usando gel de sílica ou alternativamente resinas como Sephadex LH-20 e/ou Amberlite XAD-2) e cromatografia em camada delgada (CCD) preparativa (Van den Berg e Labadie, 1989). Recentemente, vêm sendo utilizadas, sobretudo para o isolamento de antraquinonas de ruibarbo, técnicas como a cromatografia em contracorrente (Yang et al., 1999) e eletroforese capilar (Ji et al., 1998; Li et al., 2000a).

6.2. Caracterização através de reações químicas e métodos físico-químicos

Compostos quinóides são caracterizados geralmente pela combinação de reações químicas e análises espectroscópicas. A reação de quinonas com substâncias redutoras como ditionito de sódio leva à formação das hidroquinonas correspondentes (quase sempre incolores), redução esta que é facilmente revertida por oxidação espontânea em contato com o ar atmosférico (Ulrich e Richter, 1977).

A alteração da coloração das quinonas em meio alcalino (ver item 3.3) pelo reagente de Bornträger pode ser utilizada como reação de detecção, permitindo diferenciar hidróxi-antraquinonas (Wagner et al., 1983). As 1,8-di-hidróxi-antraquinonas (por exemplo, emodina) apresentam cor vermelha, enquanto as 1,2-di-hidróxi-antraquinonas (por exemplo, alizarina) apresentam coloração azul-violeta em meio alcalino (Van den Berg e Labadie, 1989). Antronas e diantronas produzem inicialmente cor amarela que muda rapidamente para vermelho com a formação, por oxidação, das correspondentes antraquinonas (Van der Vijver, 1975).

A maioria das *p*-quinonas reage com solução etanólica do 2,4-dinitrofenil-hidrazina, sendo que esses produtos de condensação adquirem cores intensas (do laranja até violeta ou verde) ao contato com vapores de amônia (Ulrich e Richter, 1977). A reação com o reagente de Craven (cianoacetato de etila em solução etanólica de hidróxido de amônio) permite detectar *p*-benzo- ou naftoquinonas que apresentam pelo menos um átomo de hidrogênio ou de cloro adjacente à carbonila do anel quinônico, através da produção de intensa cor azul (Craven, 1931; Ulrich e Richter, 1977).

A presença de ligações duplas conjugadas confere a todas as quinonas uma coloração intensa na luz visível; pela presença de grupos cromóforos, as quinonas também apresentam absorção na região do ultravioleta. O espectro UV de benzoquinonas é mais característico que o de naftoquinonas e antraquinonas (Thomson, 1971; Ulrich e Richter, 1977).

Nos espectros de infravermelho, os grupamentos carbonila de quinonas são responsáveis por bandas intensas, típicas, entre 1.630 e 1.700 cm^{-1} , diferentemente de cetonas, ésteres ou ácidos carboxílicos que costumam apresentar a banda de carbonila acima de 1.700 cm^{-1} (Ulrich e Richter, 1977).

Para a elucidação estrutural das quinonas vêm sendo utilizadas extensivamente técnicas de ressonância nuclear magnética protônica e de carbono 13, análise por difração de raios-X, além de espectrometria de massas, que permitem a observação do padrão de fragmentação e de picos característicos.

6.3. Análise quantitativa

Para a análise quantitativa e identificação de quinonas específicas têm sido desenvolvidas várias metodologias, frequentemente envolvendo suas propriedades oxidantes (Ulrich e Richter, 1977). Através da reação de Bornträger, a concentração de antraquinonas em extratos vegetais pode ser determinada espectrofotometricamente (Van den Berg e Labadie, 1989). Para a mesma finalidade, pode-se utilizar a reação com uma solução metanólica de acetato de magnésio, ao invés de hidróxidos alcalinos e medir a absorção em 515 nm (Deutsches 1991). A cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) também tem sido utilizada para quantificação de derivados antracênicos (Liu et al., 1999; Li et al., 2000b) e outras quinonas (Ghosheh et al., 1999), tanto em drogas vegetais como em preparações fitoterápicas. A cromatografia em camada delgada (CCD) de alta eficiência (Shah et al., 2000) e CCD seguida por análise densitométrica (Ma et al., 1997) são outras metodologias descritas para o doseamento de quinonas.

7. ATIVIDADES FARMACOLÓGICAS E BIOLÓGICAS

Em geral, aceita-se a teoria de que certas quinonas tenham um papel na defesa da planta contra insetos e outros patógenos. Várias quinonas encontradas no lenho de espécies de Leguminosas apresentam toxicidade para cupins; dessa forma, a resistência da madeira aumenta seu valor comercial. Na quina (*Cinchona ledgeriana* (Howard) Moens ex Trimen, Rubiaceae) só foram encontradas antraquinonas em partes da planta infectadas com fungos patogênicos para a espécie. A benzoquinona primina (figura 6), comum em espécies ornamentais do gênero *Primula*, demonstrou uma ação protetora contra insetos fitófagos. Outra função de defesa química atribuída às quinonas relaciona-se com a chamada atividade alelopática, ou seja, a produção e excreção para o ambiente de substâncias capazes de inibir a germinação de outras espécies nas proximidades. A naftoquinona juglona (figura 7), excretada pelas raízes da noqueira (*Juglans regia* L., Juglandaceae), é considerada um exemplo clássico de substância alelopática, pois inibe a germinação de outras plantas, protegendo o vegetal contra outros competidores (Van den Berg e Labadie, 1989). Outras naftoquinonas, tais como 7-metil-juglona, lausona (e seus derivados 2- e 5-metoxilados) e plumbagina também inibiram a germinação (Spencer et al., 1986).

A atividade laxante é a responsável pela utilização terapêutica da maioria dos vegetais que contêm quinonas, sendo as substâncias ativas, no caso, os derivados hidróxi-antracênicos. Outras drogas vegetais clássicas, contendo sobretudo naftoquinonas, apresentam atividades farmacológicas e biológicas bastante variadas, mas são usadas com menor frequência que as drogas laxantes (ver item 10 deste capítulo).

Muitas plantas contendo quinonas têm uso restrito a algumas regiões ou têm sua utilização limitada por efeitos adversos. Diversas naftoquinonas presentes em gêneros das famílias Ebenaceae, Bignoniaceae e Plumbaginaceae apresentaram atividade contra *Leishmania* (Iwu et al., 1994). Naftoquinonas também são responsáveis pelas atividades antibacteriana, antifúngica e antitumoral de extratos de *Kigelia pinnata* (Jacq.) DC., Bignoniaceae (Houghton et al., 1994; Binutu et al., 1996).

Benzoquinonas como primina e perezona e naftoquinonas como β -lapa-chona, mansononas A, C, E e F (figura 6) apresentaram atividade contra tripanossomatídeos (De Pahn et al., 1988; Molina Portela et al., 1991). Outras quinonas (sobretudo *o*-naftoquinonas) apresentaram atividade *in vitro* contra formas tripomastigotas de *Trypanosoma cruzi* (Silva et al., 1992).

Primina, isolada originalmente de *Primula obconica* Hance (Primula-

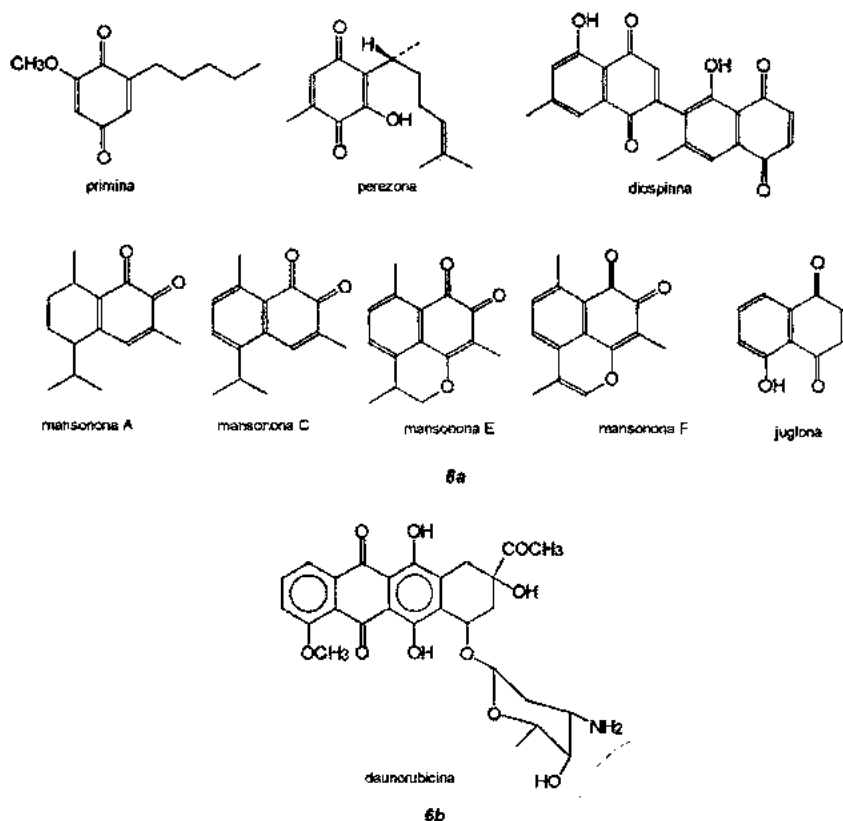


Figura 6. Estruturas de benzo- e naftoquinonas com atividades biológicas diversas (6a) e da daunorubicina (6b)

ceae), também foi isolada de plantas brasileiras dos gêneros *Miconia* - Melastomataceae (Gonçalves de Lima et al., 1970) e *Eugenia* - Myrtaceae (Falkenberg, 1996). Essa benzoquinona apresentou atividade antileucêmica *in vitro* comparável à da daunorubicina (figura 6b) (Eferth et al., 1996), mas seu potencial terapêutico é limitado pela sua atividade alergizante (Hausen, 1988).

A diospirina, que apresentou significativa atividade antitumoral *in vivo* e atividade antiprotozoária contra promastigotas de *Leishmania donovani*, teve sua pronunciada citotoxicidade reduzida através da formação de derivados semissintéticos (Hazra et al., 1994).

Para o crisofanol, antraquinona de reconhecida ação laxante, foi comprovada recentemente também atividade antiviral contra poliovírus dos tipos 2 e 3 (Semple et al., 2001). Refina, fisciona, aloe-emodina e crisofanol também apresentaram atividade antifúngica (Agarwal et al., 2000).

8. UTILIZAÇÃO INDUSTRIAL E EMPREGO FARMACÊUTICO

As quinonas estão incluídas entre os pigmentos naturais utilizados como corantes alimentares e nesse grupo incluem-se antraquinonas de diversas espécies de Rubiaceae (*Morinda*, *Rubia*, *Cinchona* e *Galium*), destituídas de ação laxante e obtidas sobretudo através de cultura *in vitro*, em condições que permitam rendimentos otimizados (Dörnenburg e Knorr, 1996).

A quinona que apresenta maior valor comercial como pigmento é a naftoquinona chiconina, um pigmento vermelho obtido originalmente das raízes de *Alkanna tinctoria* Tausch (Boraginaceae). Essa molécula apresenta um centro assimétrico (figura 7), sendo que o isômero dextrógiro (1'R) corresponde à chiconina, enquanto o levógiro (1'S) é denominado alcanina (Thomson, 1987). A alcanina é utilizada como corante para cosméticos e alimentos (*Natural Red 20*) e também na microdeterminação espectrofotométrica do berílio (Budavani, 1996). A chiconina foi a primeira substância obtida comercialmente por cultura de células vegetais - a produção em larga escala obteve-se partir de outra planta da mesma família, *Lithospermum erythrorhizon* Siebold et Zucc. (Dörnenburg e Knorr, 1996).

A naftoquinona juglona (figura 6a) tem uso industrial como corante (*Natural Brown 7*) e também como indicador de pH. A antraquinona alizarina é usada como matéria-prima para a síntese de outros corantes, como indicador ácido-base e em testes de identificação de alumínio, mercúrio, zinco e zircônio (Budavani, 1996). A aloe-emodina (figura 7) é utilizada como matéria-prima para a síntese de antibióticos do grupo das antraciclina (Thomson, 1987).

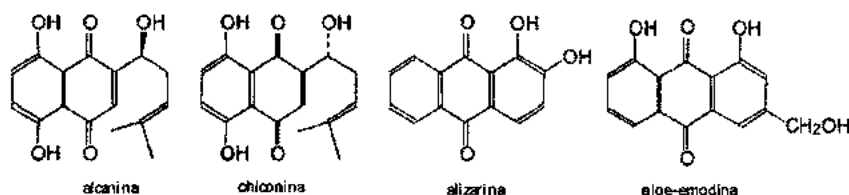


Figura 7. Exemplos de quinonas que são empregadas industrialmente como corantes ou com outras finalidades

Extratos à base de antraquinonas, e também algumas substâncias isoladas, como a aloína, são utilizadas como laxante (Budavani, 1996). Atualmente, no Brasil, a maioria das especialidades farmacêuticas contendo compostos antraquinônicos, com indicação de laxante, consiste de associações de vários extratos vegetais e, às vezes, incluem também outras substâncias ativas de origem não-vegetal. Nesse grupo, cáscara-sagrada, sene e ruibarbo são as mais amplamente empregados pela indústria farmacêutica no Brasil e em outros países. Encontram-se ainda no mercado produtos à base da naftoquinona lapachol (item 10) e da ubiquinona conhecida como ubidecarenona ou *coenzima Q10*. O uso desta naftoquinona em medicamento para doenças cardiovasculares é controverso; essa substância foi aprovada na Alemanha apenas como complemento alimentar, mas mesmo nesse aspecto, também não há unanimidade sobre a validade do seu uso (Hötzel, 1995).

9. RELAÇÃO ESTRUTURA-ATIVIDADE, MECANISMO DE AÇÃO E EFEITOS ADVERSOS DE DERIVADOS ANTRACÊNICOS

Em relação aos compostos antracênicos, que constituem o maior grupo das quinonas, o mais homogêneo e também o de maior interesse terapêutico, já se dispõe de dados conclusivos sobre algumas *relações estrutura-atividade*:

- os glicosídeos constituem as formas de transporte e de maior potência farmacológica, porém, pela reduzida lipossolubilidade, têm menores índices de absorção (menor biodisponibilidade) que as correspondentes antraquinonas livres;

- as antronas e diantronas são até 10 vezes mais ativas que as formas oxidadas e constituem as formas realmente ativas dos compostos antracênicos, sendo formadas ou liberadas no intestino grosso pela flora bacteriana após hidrólise dos glicosídeos (Kobashi et al., 1980) ou, em menor proporção, através da redução das antraquinonas. Assim, os glicosídeos de antronas são os mais potentes, enquanto os glicosídeos de antraquinonas só têm ação laxante em doses bem maiores;

- as hidroxilas nas posições C-1 e C-8 são essenciais para a ação laxante (Wagner, 1988).

Atualmente, há pelo menos três mecanismos conhecidos para a atividade laxante dos antranóides:

a) estimulação direta da contração da musculatura lisa do intestino, aumentando a motilidade intestinal - este mecanismo está possivelmente relacionado com a liberação ou com o aumento da síntese de histamina ou outros mediadores (Wagner, 1988);

b) inibição da reabsorção de água através da inativação da bomba de Na^+/K^+ -ATPase; a bomba de Na^+/K^+ é inibida por barbalofina (Ishii et al., 1994), reína, frângula-emodina, pelas correspondentes antronas e por outras antraquinonas com um grupamento adicional de hidroxila fenólica (Rauwald et al., 1992);

c) inibição dos canais de Cl^- , comprovada para inúmeros 1,8-hidróxi-antranóides (antraquinonas e antronas), sendo mais intensa para aloe-emodina (Hönig et al., 1992).

O consumo regular, por pelo menos um ano, leva freqüentemente ao espessamento da mucosa do reto e cólon, reversível com a interrupção do uso. Esta alteração pode ser utilizada para diagnóstico do consumo abusivo de laxantes. Os efeitos adversos e tóxicos das drogas laxantes contendo derivados antracênicos podem envolver alterações morfológicas no reto e cólon, tais como fissuras anais, prolapsos hemorroidais e outras alterações que não regredem espontaneamente, exigindo intervenção cirúrgica. Também podem ocorrer processos inflamatórios e degenerativos, com risco de redução severa do peristaltismo, o que pode conduzir à atonia (Westendorf, 1993f). A redução do tônus intestinal leva freqüentemente ao uso crônico e abusivo de laxantes, instituindo-se, assim, um círculo vicioso. Essas lesões na mucosa do cólon têm sido associadas à elevação do risco de carcinoma colorretal. Embora o uso de laxantes antraquinônicos por curtos períodos seja em geral considerado seguro, o seu uso a longo prazo é contraindicado (van Gorkom et al., 1999). Outro risco sério relacionado ao uso abusivo de laxantes é a perda de eletrólitos. A perda de K^+ pode levar à redução do tônus intestinal, distúrbios renais, sintomas neuromusculares e distúrbios da formação e condução dos estímulos em nível do miocárdio; especialmente crítico é o risco de hipocalcemia para pacientes usando medicamentos digitálicos no tratamento da insuficiência cardíaca.

A potencial genotoxicidade de 1,8-di-hidróxi-antraquinonas tem sido objeto de estudo de diversos grupos, em vários modelos de teste, mas ainda há muitas controvérsias. Várias investigações apontaram o potencial mutagênico de diversos antranóides, tais como emodina, aloe-emodina, frangulina e glicofrangulina; a reína e os senosídeos não apresentaram mutagenicidade (Westendorf, 1993a,f; Müller et al., 1996; Brusick e Mengs, 1997; Muller e Stopper, 1999), enquanto que o crisofanol (Choi et al., 1997) e a reína apresentaram atividade antimutagênica (Sun et al., 2000).

10. DROGAS VEGETAIS CLÁSSICAS

SENE

Nome científico: *Senna alexandrina* Mill.

Sinónimia científica: *Cassia angustifolia* Vahl, *Cassia senna* L. e *Cassia acutifolia* Delile

Família botânica: Caesalpiniaceae

Parte usada: folíolos e frutos

Monografias farmacopéicas: F. Bras. IV, DAB 10, 2.AB-DDR, Ph. Helv. VII, ÖAB 9, USP XXII

Senna alexandrina Mill. é encontrada na maioria das Farmacopéias sob dois nomes: *Cassia senna* L. (sene-de-alexandria ou sena-egípcia) e *Cassia angustifolia* Vahl (sene-de-tinnevely ou sena-indiana). A primeira é nativa do norte da África, Egito e Sudão, sendo exportada sobretudo através do porto de Alexandria, enquanto a segunda é originária do Egito, mas vem sendo cultivada na Índia, especialmente nas regiões de Tinnevely, Madras e Bombaim desde o século XIX (Wagner, 1988). Estes dois nomes foram sinonimizados.

Embora usada medicinalmente pelos árabes já no século IX, o uso como laxante só passou a ter maior destaque na época do Renascimento e é o responsável pelo seu emprego terapêutico atual (Harnischfeger e Stolze, 1983).

De forma geral, a composição de derivados antracênicos é semelhante nos folíolos e nos frutos, mas o teor total de glicosídeos antranóides é maior nos frutos – cerca de 5% – que nos folíolos – cerca de 3% (Westendorf, 1993c), embora nestes últimos o teor de derivados de aloe-emodina (com maior atividade) seja mais alto. Assim, na mesma dose, folíolos apresentam efeito laxante mais intenso que os frutos (Wagner, 1988).

Os principais constituintes são diantronas-8-8'-diglicosídeos chamados senosídeos A-F, com predomínio dos senosídeos A e B. Os senosídeos primários E e F correspondem a glicosídeos conjugados com grupos sulfato e oxalato (Wagner, 1988). Durante a secagem da planta, através de uma combinação de reações redox e processos enzimáticos, formam-se a partir destes glicosídeos as correspondentes diantronas e antraquinonas. Como as diantronas possuem dois centros assimétricos (em C-10 e C-10'), tem-se a possibilidade de uma série de estereoisômeros, bem como de alguns compostos opticamente ativos. Conforme a combinação de antronas, têm-se diferentes agliconas e glicosídeos de diantronas (Harnischfeger e Stolze, 1983), como pode ser visto na tabela 1 e na figura 8.

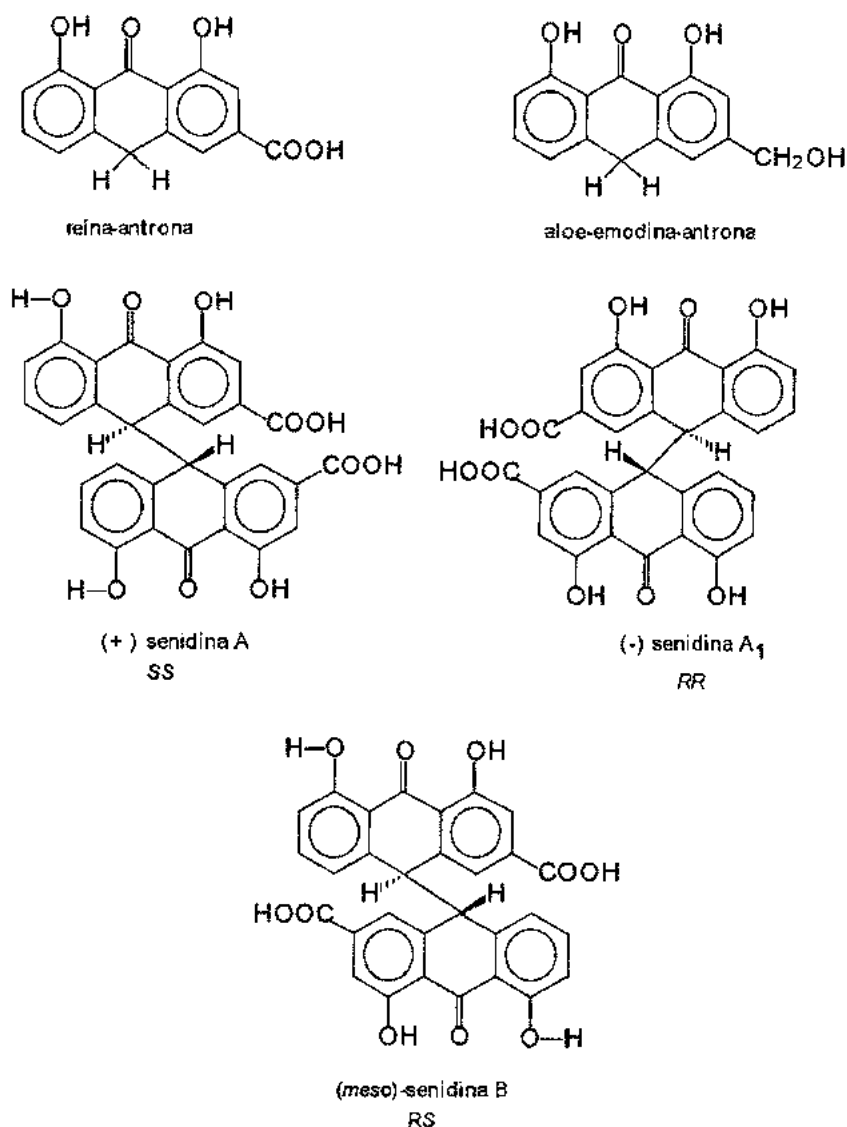


Figura 8. Estruturas das principais antronas e diantronas presentes em espécies do gênero *Senna*

TABELA 1
Agliconas e glicosídeos diantrônicos de folhas e frutos de sene

Aglicona	Combinação de antronas	Glicosídeo
senidina A	reína-antrona/ reína-antrona	senosídeo A
senidina B	reína-antrona/ reína-antrona	senosídeo B
senidina C	reína-antrona/ aloe-emodina-antrona	senosídeo C
senidina D	reína-antrona/ aloe-emodina-antrona	senosídeo D
reidina A	reína-antrona/ emodina-antrona	reosídeo A
palmidina A	aloe-emodina-antrona / emodina-antrona	palmosídeo A

Algumas espécies de *Senna* encontradas eventualmente como adulterantes do sene, como *S. auriculata* (L.) Roxb., *S. italica* Mill. e outras, não apresentam praticamente derivados antracênicos em sua composição. Já os frutos da espécie *Cassia fistula* L., originária provavelmente da Ásia tropical e cultivada no Brasil e em outros países, apresentam senosídeos A e B, reína e outros antranóides em concentrações menores que os senes oficiais, podendo ser considerados como laxantes suaves (Wagner, 1988).

CÁSCARA-SAGRADA

Nome científico: *Rhamnus purshiana* DC.

Sinonímia científica: *Frangula purshiana* (DC.) A.Gray ex J. G. Cooper

Família botânica: Rhamnaceae

Parte usada: casca dos caules

Monografias farmacopéicas: F.Bras.IV, DAB 10, Ph. Eur. II, Ph. Helv. VII, ÖAB 9, USP XXII

Trata-se de uma espécie originária da costa oeste dos Estados Unidos, atualmente cultivada também noutras regiões e no Canadá, de forma que praticamente toda a cáscara-sagrada utilizada medicinalmente provém de cultivo (Wagner, 1988). O seu uso como laxante é muito popular nos Estados Unidos, onde existem vários medicamentos de venda livre contendo extratos desta planta. Ela é considerada a mais suave entre as drogas laxantes contendo derivados antracênicos (Tyler, 1994).

A cáscara-sagrada contém teores em torno de 6% de derivados hidroxiantracênicos (Westendorf, 1993e), dos quais no mínimo 60% devem corresponder aos cascarosídeos (Wichtl, 1989). O total de glicosídeos antracênicos é composto por 80 a 90% de C-glicosídeos e 10 a 20% de O-glicosídeos (figura 9). O grupo dos C-glicosídeos inclui glicosídeos mistos do tipo 8-O-, 10-C-diglicosídeos (como os cascarosídeos A, B, C e D) além das aloínas (10-C-glicosídeos derivados da aloe-emodina). Já os O-glicosídeos são representados por monoglicosídeos da emodina, aloe-emodina e crisofanol. Os cascarosídeos em geral são O-glicosídeos de aloína e 11-desoxialoína, sendo que os cascarosídeos A e B são diastereoisômeros da aloína-8-O-β-D-glicosídeo com diferente configuração no C-10, enquanto

os cascarosídeos C e D constituem diastereoisômeros da desóxi-alóina-8- β -D-glicosídeo (figura 9b). Os isômeros de cada par podem sofrer interconversão até o estabelecimento de um estado de equilíbrio (Wagner, 1988; Rimpler, 1990).

Os fragmentos das cascas dessecadas dos caules devem ser aquecidos a 100°C por 1 a 2 horas ou então estocados por no mínimo 1 ano antes de ser liberados para uso (Wagner, 1988), já que a droga vegetal recentemente coletada contém antronas, podendo provocar fortes vômitos e até espasmos nos usuários (Wichtl, 1989).

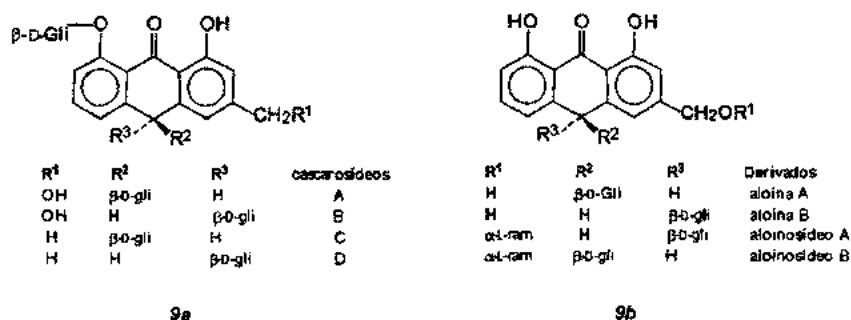


Figura 9. Estruturas de O- e C- glicosídeos da casca-sagrada (9a) e de O-glicosídeos do amieiro-preto (9b)

Na Europa, a casca dessecada dos ramos de *Rhamnus frangula* L. (amieiro-preto) é incluída em várias farmacopéias. Diferentemente de outras drogas vegetais contendo derivados antranóides, as cascas do amieiro-preto contêm sobretudo O-glicosídeos das formas antraquinônicas, menos ativas que as antronas e biantronas, tendo, por isso, uma ação laxante mais suave (Steinegger e Hänsel, 1988). Os principais constituintes hidróxi-antracênicos (figura 9b) são os biglicosídeos da emodina chamados glicofrangulina A e B, além de frangulina-emodina-8-O-glicosídeo, frangulina A e frangulina B (Wichtl, 1989).

RUIBARBO

Nomes científicos: *Rheum palmatum* L. e *Rheum officinale* Baill. e híbridos destas espécies.

Parte usada: rizomas

Família botânica: Polygonaceae

Inclusões em farmacopéias: F.Bras. III, DAB 10, 2.AB-DDR, Ph. Helv. VII, ÖAB 9, Ph. Sin.

O ruibarbo é originário da China e Tibete, sendo essas espécies atualmente cultivadas em toda a Ásia e também na Europa. Trata-se de uma das plantas mais antigas e conhecidas na medicina tradicional chinesa, sendo muito usado como laxante, antiinflamatório e hemostático. O ruibarbo da região do Himalaia era

denominado *hemodi* pelos gregos, sendo esta a origem da palavra *emodina*. O ruibarbo considerado *verdadeiro* é obtido de plantas que crescem em altitudes elevadas, com cerca de seis anos, na época de floração, sendo os rizomas e raízes descascados ainda frescos, cortados em pedaços e dessecados. A droga procedente de cultivo é obtida de plantas mais jovens, já que a cultura por 6 anos seria economicamente pouco viável (Steinegger e Hänsel, 1988).

Os ruibarbos officinais contêm 3 a 12% de derivados antracênicos (figura 10), dos quais 60 a 80% correspondem a glicosídeos de frângula-emodina, reína, aloe-emodina, crisofanol e fisciona (figura 10a). Frequentemente observam-se falsificações com o uso de outras espécies de *Rheum* (sobretudo *R. rhaponticum* L., chamado ruibarbo-rapôntico, ruibarbo-do-jardim ou ruibarbo-francês), que apresentam teores bem menores de derivados antracênicos que as outras duas espécies consideradas officinais na maioria dos países. A caracterização do ruibarbo rapôntico por cromatografia em camada delgada é possível através da identificação da presença do raponticosídeo (heterosídeo não-antraquinônico que apresenta forte fluorescência azul) ou sua aglicona rapontigenina (Figura 10b), bem como da ausência de reína e aloe-emodina. Os ruibarbos também contêm 5 a 10% de taninos e 2 a 3% de flavonóides (Wichtl, 1989), bem como teores relativamente altos de ácido oxálico, que podem estar relacionados com os problemas renais relatados em casos de intoxicação por folhas de ruibarbo (Westendorf, 1993b).

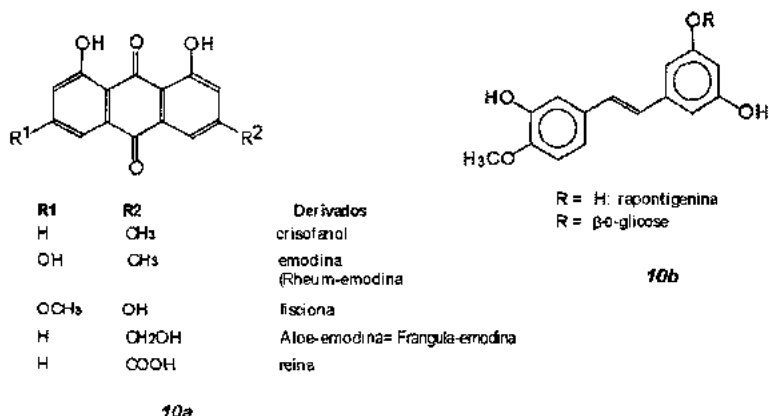


Figura 10. Principais agliconas antraquinônicas do ruibarbo (10a) e estruturas do raponticosídeo e de sua aglicona (10b)

BABOSA

Nomes científicos: *Aloe ferox* Mill. e seus híbridos com *Aloe africana* Mill. e *Aloe spicata* L. f.; *Aloe vera* (L.) Burm. f. (sinonímia: *Aloe barbadensis* Mill.)

Família botânica: Asphodelaceae (anteriormente: Liliaceae)

Parte usada: látex dessecado das folhas

Inclusões em farmacopéias: F.Bras. III, DAB 10, Ph. Eur. III, 2.AB-DDR, Ph.Helv. VII, ÖAB 9, USP XXII.

Entre as drogas vegetais contendo derivados antracênicos, os aloes são as que apresentam maior atividade laxante (Wichtl, 1989).

O farmacógeno tradicionalmente usado como laxante é obtido a partir do látex amarelado, produzido pelas células excretoras, localizadas junto às camadas do mesofilo das folhas, abaixo da epiderme (Tyler, 1994). Esse látex é concentrado até a secura, por cozimento em fogo direto e posteriormente vertido em recipientes metálicos, em que a massa endurece (Wichtl, 1989). A droga assim obtida tem ação laxante e não deve ser confundida com o chamado gel de *Aloe vera* - mucilagem obtida das folhas (Tyler, 1994), que é muito utilizado em cosméticos por suas propriedades emolientes, hidratantes, anti-inflamatórias e antibacterianas (Wichtl, 1989).

Os dois tipos oficiais de aloe apresentam diferenças quanti- e qualitativas. Tanto o aloé-do-cabo quanto o de curaço apresentam altos teores de aloína A e B (também chamadas aloína e barbaloina, respectivamente), que são os principais constituintes de ambos, chegando de 13 a 27% (Cabo) ou 25 a 40% (Curaço). As estruturas desses compostos podem ser visualizadas na figura 11.

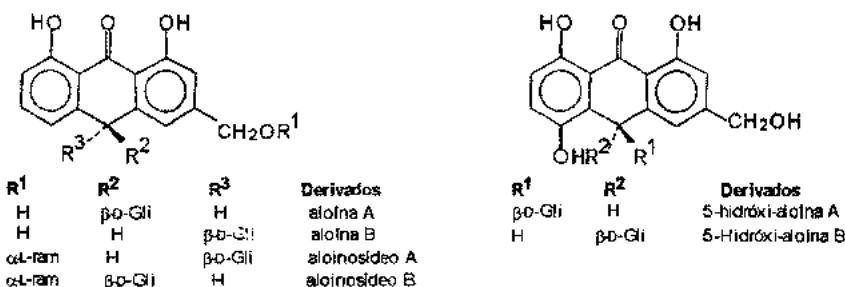


Figura 11. Principais derivados hidroxiantracênicos presentes na babosa

No que diz respeito ao gel de *Aloe vera*, pouco se conhece em relação à sua composição, pois muitos dos componentes sofrem decomposição durante a produção ou estocagem dos extratos. Devido à instabilidade dos componentes do gel de *Aloe vera*, o uso da mucilagem fresca ou de preparados estabilizados seria preferível (Tyler, 1994).

IPÊ-ROXO

Nome científico: *Tabebuia heptaphylla* (Vell.) Toledo

Sinonímia científica: *Tabebuia avellanadae* Lorentz ex Griseb.

Família botânica: Bignoniaceae

Parte usada: casca dos caules

No Brasil, os nomes populares pau-d'arco e ipê são usados para diversas bignoniáceas, sobretudo dos gêneros *Tabebuia* e *Tecoma*, mas também para algumas Boragináceas e Leguminosas. O nome popular ipê geralmente é acompanhado pela especificação de características especiais (ipê-roxo, ipê-do-cerado, etc.). Diversas dessas espécies são conhecidas nos países latino-americanos de língua espanhola como "lapacho" (Pio Corrêa, 1984). As espécies mencionadas são originárias das Américas do Sul e Central, sendo muito comuns no Brasil. O nome pau-d'arco provém do costume indígena de confeccionar arcos com a madeira dessas árvores. Quase todos os ipês possuem um lenho bastante resistente, o que confere à sua madeira um grande valor comercial; muitas espécies apresentam potencial de utilização como corante. As cascas das árvores também são utilizadas na medicina popular com várias finalidades, sobretudo como adstringente, febrífugo, anti-reumático (Pio Corrêa, 1984; Duke, 1985). Na década de 70, a publicidade envolvendo o uso de extratos à base de *Tabebuia heptaphylla* contra diversos tipos de câncer quase colocou essa planta em risco de extinção.

A atividade antitumoral das cascas do ipê-roxo é atribuída à naftoquinona lapachol e outras quinonas (figura 12). Os extratos do lenho de várias espécies de *Tabebuia* contêm sobretudo lapachol e des-hidro- α -lapachona, enquanto os extratos das cascas contêm apenas traços dessas substâncias e teores maiores de furonaftoquinonas citotóxicas (Girard et al., 1988).

O lapachol apresentou atividade antitumoral *in vitro* e chegou a ser testado clinicamente pelo NCI (*National Cancer Institute*, EUA). As investigações foram suspensas devido à baixa biodisponibilidade da substância, que tornava necessário o uso de altas doses para atingir concentrações terapêuticas no plasma. Essas doses implicavam efeitos tóxicos, entre os quais o prolongamento do tempo de protrombina, sendo esse efeito anticoagulante devido possivelmente à similaridade estrutural do lapachol com a vitamina K (Duke, 1985). Assim, embora a publicidade que cerca as preparações comerciais afirme o contrário, o uso de cascas do ipê no tratamento do câncer não é considerado como validado cientificamente (Tyler, 1994).

O lapachol e outras quinonas de Bignoniaceae continuam, entretanto, sendo objeto de interesse científico e tema de muitas investigações (Houghton et al., 1994; Dinnen e Ebisuzaki, 1997; Pinto et al., 2000; Shetgiri et al., 2001; Teixeira et al., 2001).

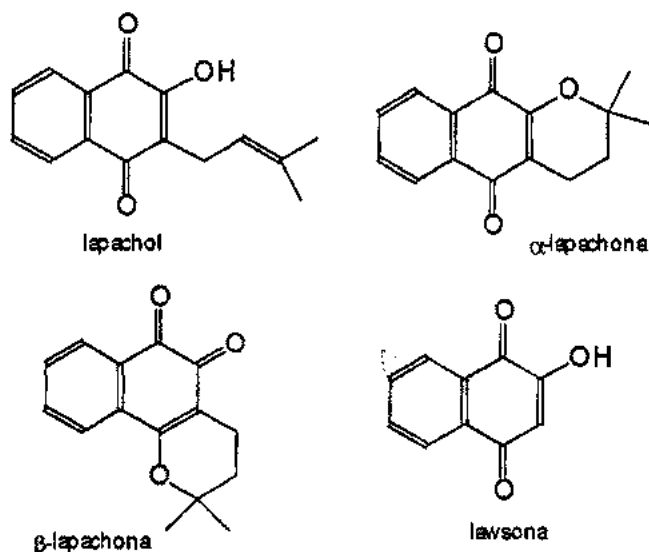


Figura 12. Principais naftoquinonas presentes em drogas vegetais clássicas

HENA

Nome científico: *Lawsonia inermis* L.

Sinonímia científica: *Lawsonia inermis* forma *alba* Lam.

Família botânica: Lythraceae

Parte usada: folhas

Originária dos países do Oriente Médio e Índia, essa espécie é cultivada em toda a Ásia e na costa africana do Mediterrâneo.

As folhas são utilizadas na medicina tradicional de países asiáticos como diurético e adstringente e externamente no tratamento de eczemas, micoses e feridas; mas sobretudo como corante para cabelos, pele e unhas (Wichtl, 1989). A múmia de uma princesa egípcia que teria vivido aproximadamente em 1.400 a.C. já apresentava os cabelos tingidos por hena (Hausen, 1988). Nos países ocidentais, seu uso como corante capilar é atualmente muito difundido. Preparados de hena pura costumam tingir de forma diferenciada os cabelos, conforme sua cor original, em variações de tons avermelhados. Visando à obtenção de tons mais naturais, alguns preparados misturam folhas de hena com folhas de *Indigofera tinctoria* L. (Fabaceae), cuja cor azul neutralizaria a coloração avermelhada da hena, de forma que a coloração resultante varie do louro natural até marrom ou preto, dependendo da dose aplicada e da duração do contato. Os preparados comerciais de hena exibem frequentemente a especificação preta, vermelha ou neutra. Esta última deveria manter a cor natural, apenas conferindo mais brilho aos cabelos; de qualquer forma, antes do seu uso seria recomendável testar sua efetiva ausência de efeito corante (Wichtl, 1989) e para todas elas dever-se-ia também testar sua potencial atividade alergizante.

Um dos componentes responsáveis pela ação corante é a naftoquinona lawsona (figura 12), que apresenta uma baixa potência sensibilizante. Há relatos comprovando alergias provocadas por essa substância, enquanto outros casos de dermatites de contato provocadas por hena, relatados na literatura, deixaram dúvidas se as reações ocorridas não seriam devidas a impurezas das preparações de hena (Hausen, 1988).

11. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICAS

- AGARWAL, S.K.; SINGH, S.S.; VERMA, S.; KUMAR, S. Antifungal activity of anthraquinone derivatives from *Rheum emodi*. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 72, n.1-2, p.43-46, 2000.
- AUTERHOFF, H.; KNABE, J.; HÖLTJE, H.-D. *Lehrbuch der Pharmazeutischen Chemie*. 13. Aufl., Stuttgart: Wissenschaftliche, 1994.
- BINUTU, O.A.; ADESGAN, K.E.; OKOGUN, J.I. Antibacterial and antifungal compounds from *Kigelia pinnata*. *Planta Med.*, v. 62, p. 352-353, 1996.
- BOOTHMAN, D.A.; TRASK, D.K.; PARDEE, A.B. Inhibition of potentially lethal DNA damage repair in human tumor cells by beta-lapachone, an activator of topoisomerase I. *Cancer Res.*, v. 49, n. 3, p. 605-612, 1989.
- BRUSICK, D.; MENGES, U. Assessment of the genotoxic risk from laxative senna products. *Environ.Mol. Mutagen.* v.29, n.1, p.1-9, 1997.
- BUDAVARI, S. et al. (ed.). *The Merck Index*. 12.ed. Whitehouse Station: Merck, 1996.
- CHOI, J.S.; LEE, H.J.; PARK, K.-Y.; HA, J.-O.; KANG, S.S. *In vitro* antimutagenic effects of anthraquinone aglycones and naphthopyrone glycosides from *Cassia tora*. *Planta Med.*, v. 63, n. 1, p. 11-14, 1997.
- COLMAN DE SAIZARBITORIA, T.; ANDERSON, J.E.; ALFONSO, D.; MCLAUGHLIN, J.L. Bioactive furonaphtoquinones from *Tabebuia barbata* (Bignoniaceae). *Acta Cient. Venez.*, v. 48, n. 1, p. 42-6, 1997.
- CRAVEN, R. A sensitive colour for certain quinones. *J. Chem. Soc.*, p. 1605, 1931.
- DECOSTERD, L.A.; PARSONS, I.C.; GUSTAFSON, K.R.; CARDELINA II, J.H.; MCMAHON, J.B.; CRAGG, G.M.; MURATA, Y.; PANNELL, L.K.; STEINER, J.R.; CLARDY, J.; BOYD, M.R. Structure, absolute stereochemistry and synthesis of conocurvone, a potent, novel HIV-inhibitory naphthoquinone trimer from a *Conospermum* sp. *J. Am. Chem. Soc.*, v. 115, p. 6673, 1993.
- De PAHN, E.M.; MOLINA PORTELA, M.P.; STOPPANI, A.O.M. Efecto de quinonas y nitrofuranos sobre *Trypanosoma mega* y *Crithidia fasciculata*. *Rev. Arg. Microbiol.*, v. 20, n. 3, p. 107-118, 1988.
- De SMET, P.A.G.M. Notes Added in Proof. In: DE SMET, P.A.G.M.; KELLER, K.; HÄNSEL, R.; CHANDLER, R.F. (ed.) *Adverse Effects of Herbal Drugs*. Berlin: Springer, 1997. v. 3.
- DEUTSCHES Arzneibuch 10. Stuttgart: Wissenschaftliche, Frankfurt:Govi, 1991.
- DINNEN, R.D.; EBISUZAKI, K. The search for novel anticancer agents: a differentiation-based assay and analysis of a folklore product. *Anticancer Res.*, v. 17, n. 2A, p. 1027-1033, 1997.
- DÖRNENBURG, H.; KNORR, D. Generation of colors and flavors in plant cell and tissue cultures. *Crit. Rev. Plant Sci.*, v. 15, n. 2, p. 141-168, 1996.
- DUKE, J.A. *Handbook of medicinal herbs*. Boca Raton: CRC, 1985.

- EFFERTH, T.; RÜCKER, G.; FALKENBERG, M.; MANNS, D.; OLBRICH, A.; FABRY, U.; OSIEKA, R. Detection of apoptosis in KG-1a leukemic cells treated with investigational drugs. *Arzneim.-Forsch./Drug Res.*, v. 46, n. 1, p. 196-200, 1996.
- FALKENBERG, M.B. *Chinone und andere Inhaltsstoffe aus Eugenia hiemalis Camb. und Paramyrciaria glazioviana (Kiaerskou) Sobral (Myrtaceae)*. Bonn: Universität Bonn, 1996. Tese de doutorado.
- GHOSHEH, O.A.; HOUDI, A.A.; CROOKS, P.A. High performance liquid chromatographic analysis of the pharmacologically active quinines and related compounds in the oil of the black seed (*Nigella sativa* L.) *J. Pharm. Biomed. Anal.*, v.19, n.5, p.757-762, 1999.
- GONÇALVES DE LIMA, O.; MARINI-BETTOLO, G.B.; DELLE MONACHE, F.; COELHO, J.S.B.; D'ALBUQUERQUE, I.L.; MACIEL, G.M.; LACERDA, A.L.; MARTINS, D.G. *Rev. Inst. Antibiót.(Recife)*, v. 10, n. 1/2, p. 29-34, 1970.
- GROS, E.G.; POMILIO, A.B.; SELDES, A.M.; BURTON, G. *Introducción al estudio de los productos naturales*. Washington, D.C.: Secretaría General de la Organización de los Estados Americanos, 1985. Série de Química, monografía nº 30.
- GIRARD, M.; KINDACK, D.; DAWSON, B.A.; ETHIER, J.-C.; AWANG, D.V.C.; GENTRY, A.H. Naphtoquinone constituents of *Tabebuia* spp. *J. Nat. Prod.*, v. 51, p. 1023-1024, 1988.
- GUIRAUD, P.; STEIMAN, R.; CAMPOS TAKAKI, G.M.; SEIGLE-MURANDI, F.; De BUOCHBERG, S. Comparison of antibacterial and antifungal activities of lapachol and b-lapachona. *Planta Med.*, v. 60, p. 373-374, 1994.
- HARBORNE, J.B.; TURNER, B.L. *Plant chemosystematics*. London: Academic, 1984.
- HARNISCHFEGER, G.; STOLZE, H. *Bewährte Pflanzendrogen in Wissenschaft und Medizin*. Bad Homburg: Notamed, 1983.
- HAUSEN, B.M. *Allergiepflanzen – Pflanzenallergene: Handbuch und Atlas der allergieinduzierenden Wild- und Kulturpflanzen*. Landsberg/Lech: Ecomed, 1988.
- HAZRA, B.; PAL, S.; BANERJEE, A. New diospirin derivatives with improved tumour inhibitory activity towards Ehrlich ascites carcinoma. *Med. Sci. Res.*, v. 22, p. 351-353, 1994.
- HEGNAUER, R.; HEGNAUER, M. *Chemotaxonomie der Pflanzen*. Band XIa Basel: Birkhäuser, 1994.
- HÖNIG, J.; GECK, P.; RAUWALD, H.W. Inhibition of Cl⁻ channels as a possible base of laxative action of certain anthraquinone and anthrones. *Planta Med.*, v. 58, suppl. 1, p. 586-587, 1992.
- HÖTZEL, D. Ubichinon: zur Bedeutung von Ubichinon (Coenzym Q) in der Ernährung. *Dtsch. Apoth. Ztg.*, v. 135, n. 27, p. 2501-2510, 1995.
- HOUGHTON, P.J.; PHOTIOU, A.; UDDIN, S.; SHAH, P.; BROWNING, M.; JACKSON, S.J.; RETSAS, S. Activity of extracts of *Kigelia pinnata* against melanoma and renal carcinoma cell lines. *Planta Med.*, v. 60, p. 430-433, 1994.
- ISHII, Y.; TANIZAWA, H.; TAKINO, Y. Studies of aloe. V. Mechanism of cathartic effect. *Biol.Pharm.Bull.*, v.17, n.5, p.651-653, 1994.
- ITOIGAWA, M.; ITO, C.; TAN, H.T.; OKUDA, M.; TOKUDA, H.; NISHINO, H.; FURUKAWA, H. Cancer chemopreventive activity of naphtoquinones and their analogs from *Avicennia* plants. *Cancer Letters*, v.174, n.2, p.135-139, 2001.

- IWU, M.M.; JACKSON, J.E.; SCHUSTER, B.G. Medicinal plants in the fight against leishmaniasis. *Parasitol. Today*, v. 10, n. 2, p. 65-68, 1994.
- Ji, S.G.; CHAI, Y.F.; WU, Y.T.; YIN, X.P.; XIANG, Z.B.; LIANG, D.S.; XU, Z.M.; LI, X. Separation and determination of anthraquinone derivatives in rhubarb and its preparations by micellar electrokinetic capillary chromatography. *Biomed. Chromatogr.*, v.12, n.6, p.335-337, 1998.
- KOBASHI, K.; NISHIMURA, T.; KUSAKA, M.; HATTORI, M.; NAMBA, T. *Planta Med.*, v. 40, n. 3, p. 225-236, 1980.
- LI, Y.; LIU, H.; JI, X.; LI, J. Optimized separation of pharmacologically active anthraquinones in rhubarb by capillary electrochromatography. *Electrophoresis*, v.21, n.15, p.3109-3115, 2000.
- LI, W.; CHAN, C.L.; LUENG, H.W. Liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry as a tool for the characterization of anthraquinone derivatives from Chinese herbal medicine. *J. Pharm. Pharmacol.*, v.52, n.6, p.723-729, 2000.
- LIU, C.L.; ZHU, P.L.; LIU, M.C. Computer-aided development of a high-performance liquid chromatographic method for the determination of hydroxyanthraquinone derivatives in Chinese herb medicine rhubarb. *J. Chromatogr. A*, v.857, n.1-2, p.167-174, 1999.
- MA, X.; MA, D.; PAN, H.; MA, D. Determination of emodin in kangnaoshuai capsules and in radix *Polygoni multiflori* by thin layer chromatography scanning. *Zhongguo Zong Yao Za Zhi*, v.22, n.1, p.31-32, 1997.
- MOLINA PORTELA, M.P.; DE PAHN, E.M.; GALEFFI, C.; STOPPANI, A.O.M. Efecto de orto-naftoquinonas lipofílicas sobre el crecimiento y la producción de peróxidos por *Leptomonas seymouri* y *Crithidia fasciculata*. *Rev. Arg. Microbiol.*, v. 23, n. 1, p. 1-14, 1991.
- MÜLLER, S.O.; ECKERT, I.; LUTZ, W.K.; STOPPER, H. Genotoxicity of the laxative drug components emodin, aloe-emodin and danthron in mammalian cells: topoisomerase II mediated? *Mut. Res.*, v. 371, n.3-4, p.165-173, 1996.
- MÜLLER, S.O.; STOPPER, H. Characterization of the genotoxicity of anthraquinones in mammalian cells. *Biochim. Biophys. Acta*, v. 1428, n.2-3, p.406-414, 1999.
- PATUDIN, A.; ROMANOWA, A.; SOKOLOW, W.S.; PRIBYLOWA, G. Das Vorkommen Phenanthrenchinonen in Arten der Gattung *Salvia*. *Planta Med.*, v. 26, p. 201-207, 1974.
- PINTO, C.N.; DANTAS, A.P.; MOURA, K.C.; EMERY, F.S.; POLEQUEVITCH, P.F.; PINTO, M.C.; CASTRO, S.L.; PINTO, A.V. Trypanocidal activity of synthetic heterocyclic derivatives of active quinones from *Tabebuia* sp. *Arzneim.-Forsch.*, v.50, n.12, p.1120-1128, 2000.
- PIO CORRÊA, M. *Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas*. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura/IBDF, 1984. 6 v.
- RAUWALD, H.W.; HÖNIG, J.; FLINDT, S.; GECK, P. Different influence of certain anthraquinones/anthrones on energy metabolism: an approach for interpretation of known synergistic effects in laxative action? *Planta Med.*, v. 58, suppl. 1, p. 587-588, 1992.
- RIMPLER, H. Polyketide. In: RIMPLER, H. (ed.) *Pharmazeutische Biologie II: Biogene Arzneistoffe*. Stuttgart: Georg Thieme, 1990. cap. 7.
- SEMPLE, S.J.; PYKE, S.M.; REYNOLDS, G.D.; FLOWER, R.L. *In vitro* antiviral activity of the anthraquinone chrysophanic acid against poliovirus. *Antiviral Res.*, v.49, n.3, p.169-178, 2001.

- SHAH, S.A.; RAVISHANKARA, M.N.; NIRMAL, A.; SHISHOO, C.J.; RATHOD, I.S.; SUHAGIA, B.N. Estimation of individual sennosides in plant materials and marketed formulations by an HPTLC method. *J. Pharm. Pharmacol.*, v.52, n.4, p.445-449, 2000.
- SHETGIRI, N.P.; KOKITKAR, S.V.; SAWANT, S.N. *Radernachera xylocarpa*: the highly efficient source of lapachol and synthesis of its derivatives. *Acta Pol.Pharm.*, v. 58, n.2, p.133-135, 2001.
- SILVA J.S.; FERRIOLI FILHO, F.; KANESIRO, M.M.; FERREIRA, V.F.; SANTOS, S.C.; PINTO, C.N.; FONSECA, J.L.; MIZRAHY, H.E.; GILBERT, B.; PINTO, M.C.F.R.; RIBEIRO, F.W.; PINTO, A.V. Evaluation of some organic compounds on bloodstream forms of *Trypanosoma cruzi*. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, v. 87, n. 3, p. 345-351, 1992.
- SPENCER, G.F.; TJARKS, L.W.; ENGLAND, R.E.; SEEST, E.P. The effect of naturally occurring naphthoquinones of velvetleaf (*Abutilon theophrasti*) germination. *J. Nat. Prod.*, v. 49, n. 3, p. 530-533, 1986.
- STEINEGGER, E.; HÄNSEL, R. *Lehrbuch der Pharmakognosie und Phytopharmazie*. 4. Aufl. Berlin: Springer, 1988.
- SUN, M.; SAKAKIBARA, H.; ASHIDA, H.; DANNO, G.; KANAZAWA, K. Cytochrome P4501A1-inhibitory action of antimutagenic anthraquinones in medicinal plants and the structure-activity relationship. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, v.64, n.7, p.1373-1378, 2000.
- TEIXEIRA, M.J.; ALMEIDA, Y.M.; VIANA, J.R.; HOLANDA FILHO, J.G.; RODRIGUES, T.P.; PRATA JÚNIOR, J.R.; COELHO, I.C.; RAO, V.S.; POMPEU, M.M. *In vitro* and *in vivo* Leishmanicidal activity of 2-hydroxy-3-(3-methyl-2-butenyl)-1,4-naphthoquinone (lapachol). *Phytother. Res.*, v.15, n.1, p.44-48, 2001.
- THOMSON, R.H. *Naturally occurring quinones*. 2ed. London: Academic, 1971.
- THOMSON, R.H. *Naturally occurring quinones III: recent advances*. London: Chapman & Hall, 1987.
- THOMSON, R.H. Distribution of naturally occurring quinones. *Pharm. Weekbl. [Sci.]*, v. 13, n. 2, p. 70-73, 1991.
- TYLER, V.E. *Herbs of choice: the therapeutic use of phytomedicinals*. New York: Pharmaceutical Products, 1994.
- ULRICH, H.; RICHTER, H. Chinone: p-Chinone der Benzol- und Naphtalin-Reihe. In: MÜLLER, E. (Hrsgb.) *Methoden der Organischen Chemie*. Band VII/3a. Stuttgart: Georg Thieme, 1977.
- VAN DEN BERG, A.J.J.; LABADIE, R.P. Quinones. In: HARBORNE, J.B. (ed.). *Methods in plant biochemistry*. v. 1. London: Academic, 1989. cap. 13. p. 451-491.
- VAN DER VIJVER, L.M. *Naphthoquinones of Plumbaginaceae and Ebenaceae*. Amsterdam: Vrije Universiteit te Amsterdam, 1975. Tese de Doutorado.
- VAN GORKOM, B.A.; DE VRIES, E.G.; KARRENBELD, A.; KLEIBEUKER, J.H. Review article: anthranoid laxatives and their potential carcinogenic effects. *Aliment. Pharmacol. Ther.*, v.13, n.4, p.443-452, 1999.
- WAGNER, H. *Pharmazeutische Biologie 2: Drogen und ihre Inhaltsstoffe*. 4. Aufl., Stuttgart: Gustav Fischer, 1988.
- WAGNER, H.; BLADT, S.; ZGAINSKI, E.M. *Drogenanalyse: Dünnschichtchromatographische Analyse von Arzneidrogen*. Berlin: Springer, 1983.

- WESTENDORF, J. Anthranoid Derivatives - General Discussion. In: DE SMET, P.A.G.M.; KELLER, K.; HÄNSEL, R.; CHANDLER, R.F. (ed.). *Adverse effects of herbal drugs*. Berlin: Springer, 1993a. v. 2. p. 105-128.
- WESTENDORF, J. Anthranoid Derivatives - *Rheum* Species. In: DE SMET, P.A.G.M.; KELLER, K.; HÄNSEL, R.; CHANDLER, R.F. (ed.). *Adverse effects of herbal drugs*. Berlin: Springer, 1993b. v. 2. p. 133-136.
- WESTENDORF, J. Anthranoid Derivatives - *Cassia* Species. In: DE SMET, P.A.G.M.; KELLER, K.; HÄNSEL, R.; CHANDLER, R.F. (ed.). *Adverse effects of herbal drugs*. Berlin: Springer, 1993c. v. 2. p. 125-128.
- WESTENDORF, J. Anthranoid Derivatives - *Aloe* Species. In: DE SMET, P.A.G.M.; KELLER, K.; HÄNSEL, R.; CHANDLER, R.F. (ed.). *Adverse effects of herbal drugs*. Berlin: Springer, 1993d. v. 2. p. 119-123.
- WESTENDORF, J. Anthranoid Derivatives - *Rhamnus* Species. In: DE SMET, P.A.G.M.; KELLER, K.; HÄNSEL, R.; CHANDLER, R.F. (ed.). *Adverse effects of herbal drugs*. Berlin: Springer, 1993e. v. 2. p. 129-131.
- WESTENDORF, J. Pharmakologische und Toxikologische Bewertung von Anthranoiden. *Pharm. Ztg.*, v. 138, n. 48, p. 3891-3902, 1993f.
- WICHTL, M. (ed.) *Teedrogen*. Stuttgart: Wissenschaftliche, 1989.
- YANG, F.; ZHANG, Y.; TIAN, G.; CAO, H.; LIU, Q.; ITO, Y. Preparative isolation and purification of hydroxyanthraquinones from *Rheum officinale* Baill by high-speed counter-current chromatography using pH-modulated stepwise elution. *J. Chromatogr. A*, v.858, n.1, p.103-107, 1999.

12. SUGESTÕES PARA LEITURA

- BOLTON, J.L.; TRUSH, M.A.; PENNING, T.M.; DRYHURST, G.; MONKS, T.J. Role of quinones in toxicology. *Chem.Res.Toxicol.*, v.13, n.3, p.135-160, 2000.
- FRANZ, G. The senna drug and its chemistry. *Pharmacol.*, v.47, Supl.1, p.2-6, 1993.
- THOMSON, R.H. *Naturally occurring quinones*. 2.ed. London: Academic, 1971.
- THOMSON, R.H. *Naturally occurring quinones III: recent advances*. London: Chapman & Hall, 1987.
- VAN DEN BERG, A.J.J.; LABADIE, R.P. Quinones. In: HARBORNE, J.B. (ed.). *Methods in plant biochemistry*. London: Academic, 1989. v. 1, cap. 13, p. 451-491.

HETEROSÍDEOS CARDIOATIVOS

AUTOR

Stela Maris Kuze Fietes
Raquel Bridi

SUMÁRIO DO CAPÍTULO

1. Introdução
2. Distribuição
3. Biogênese
4. Estrutura química
5. Relação estrutura-atividade
6. Propriedades físico-químicas
7. Obtenção e análise
8. Farmacologia
9. Drogas vegetais clássicas
10. Referências bibliográficas
11. Sugestões para leitura

1. INTRODUÇÃO

Alguns esteróides presentes na natureza são caracterizados pela sua alta especificidade e poderosa ação que exercem no músculo cardíaco. Esses esteróides ocorrem como glicosídeos esteroidais e devido a sua ação sobre o músculo cardíaco, são denominados de glicosídeos cardioativos ou cardíacos. Embora os termos glicosídeo digitálico e glicosídeo cardioativo sejam, em geral, utilizados como sinônimos, glicosídeo cardioativo é um termo muito mais abrangente; o termo glicosídeo digitálico deve ser reservado para os agentes derivados das espécies do gênero *Digitalis* (popularmente conhecidas como digital ou dedaleira). Essas substâncias constituem um grupo químico perfeitamente individualizado e de grande homogeneidade estrutural e farmacológica. Séculos antes da era cristã, vários povos já conheciam extratos de diversas plantas contendo glicosídeos cardioativos utilizando-os como diurético, tônico cardíaco e emético. Em 1785, Withering publicou o livro *An account of the Foxglove and its Medical Uses*, no qual indicava o emprego da digital em estados edematosos. Em 1799, Ferriar, pioneiramente, atribuiu a ação cardiotônica às substâncias digitálicas. No início do século, como resultado do esforço do trabalho de vários pesquisadores, foi possível a elucidação estrutural e o esclarecimento do perfil farmacológico dos glicosídeos digitálicos, mas apenas nos últimos 70 anos é que se

definiu claramente o seu emprego, a despeito de seu baixo índice terapêutico, como a classe de medicamentos de eleição para o tratamento da insuficiência cardíaca congestiva, com a digoxina figurando entre os fármacos mais prescritos na terapia cardiovascular em todo o mundo. Na África e Ásia são, ainda, base de venenos de flechas para a guerra e a caça, geralmente associados a drogas irritantes, que favorecem a difusão tecidual de seus princípios tóxicos. Para detalhes sobre a história do uso dessas drogas, ver Gagnault e Bidet (1988).

2. DISTRIBUIÇÃO

No reino vegetal, os glicosídeos cardioativos são restritos às Angiospermas, indicando que existem algumas características especiais no metabolismo esteroidal de plantas com flores. A distribuição desses compostos é restrita e esporádica, isto é, ocorrem em algumas dezenas de gêneros, distribuídos desigualmente em uma dezena de famílias. A maioria dos gêneros concentram-se nas famílias Scrophulariaceae (*Digitalis*), Asclepiadaceae (*Asclepias*), Apocynaceae (*Acokanthera*, *Adenium*, *Apocynum*, *Nerium*, *Strophanthus*, *Thevetia*), Liliaceae (Asphodelaceae) (*Urginea* e *Convallaria*), Ranunculaceae (*Helleborus* e *Adonis*) e ainda em Brassicaceae, Celastraceae, Fabaceae, Moraceae e Tiliaceae (Hegnauer, 1970).

Todos os órgãos dessas plantas podem conter heterosídeos cardioativos sendo que, salvo raras exceções, as porcentagens são inferiores a 1 %. Essas substâncias podem, excepcionalmente, ser encontradas no reino animal, como em algumas espécies de anfíbios (*Bufo* spp.) (Sebben et al., 1993) e lepidópteros, geralmente, atuando como venenos ou toxinas que servem como proteção contra predadores. Porém, nos lepidópteros (lagartas), são provenientes de plantas da família Asclepiadaceae, fonte de alimentação desses animais. Alguns besouros (*Chrysolina* spp.) sintetizam esteróides cardioativos a partir de fitosteróis (Bruneton, 1993).

3. BIOGÊNESE

O precursor da genina esteroidal é o esqualeno (ver capítulo "Metabolismo básico e origem dos metabólitos secundários"). Admite-se geralmente que os cardenolídeos sejam resultantes da condensação de um derivado da série do pregnano (20-cetopregnano) funcionalizado (5 β -pregnan-3,14,21-triol-20-ona) e uma unidade dicarbonada (acetato) ou tricarbonada (propionato) (figura 1).

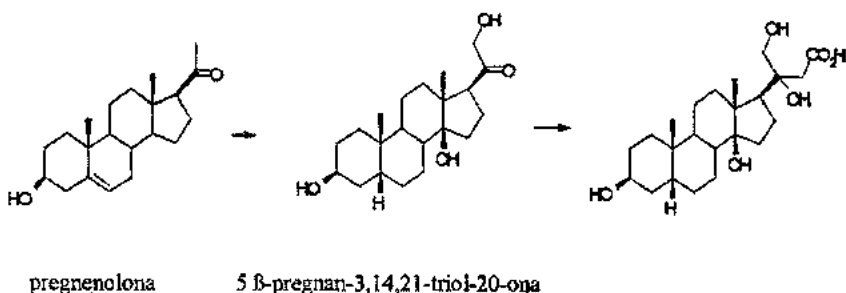


Figura 1. Esquema dos possíveis intermediários na biogênese dos cardenolídeos

4. ESTRUTURA QUÍMICA

A estrutura dos heterosídeos (figura 2) apresenta-se da seguinte maneira: as oses estão ligadas à genina de natureza esteroidal através da hidroxila β em C-3, sendo que, em um caso particular das Asclepiadáceas **1**, podem estar ligadas ao C-3 e C-2 formando uma estrutura cíclica. Os resíduos de hexoses podem variar de um a quatro, unidos por ligações β 1-4. Quando a glicose está presente, encontra-se sempre na porção terminal da estrutura. Classicamente, os heterosídeos podem ser distinguidos em primários e secundários. Os primários encontram-se geralmente nas plantas frescas, apresentando uma molécula terminal de glicose, que pode ser facilmente eliminada por hidrólise durante o procedimento de secagem, formando os heterosídeos secundários.

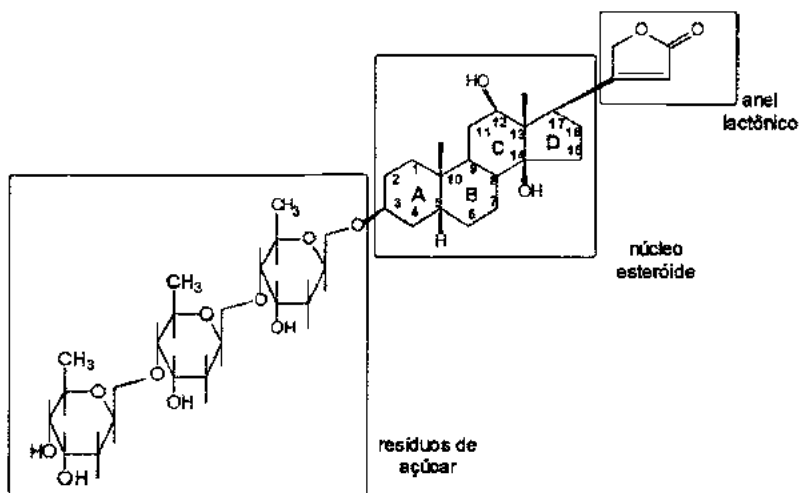
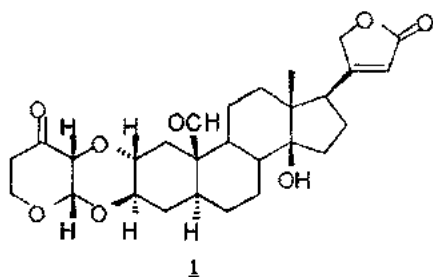


Figura 2. Exemplo de estrutura dos heterosídeos cardioativos (dígoxina)



4.1. Estrutura das geninas

Todas as geninas têm em comum o esqueleto tetracíclico característico dos esteróides. O encadeamento dos ciclos A/B, é do tipo *cis*, raramente *trans* (nas Asclepiadáceas), B/C *trans* e C/D *cis*, sendo esse último caráter conformacional, específico dos cardioativos. Todas as geninas apresentam duas hidroxilas, uma secundária em C-3 β e uma terciária em C-14 β ; um hidrogênio ou uma hidroxila em C-5 e uma metila em C-13. O último elemento que completa a estrutura básica das geninas cardiotônicas é a presença de um ciclo lactônico α,β insaturado na posição C-17 β acima do plano da molécula (Fraga e Barreiro, 1996).

O tamanho do anel lactônico permite distinguir dois tipos de genina: cardenolídeos e bufadienolídeos (figura 3). Os mais prevalentes na natureza são os cardenolídeos que possuem ciclo lactônico com quatro carbonos, C23 (2) com γ -butirolactona- α,β -insaturada. Os bufadienolídeos são menos abundantes entre os vegetais, podendo ser encontrados também no reino animal. O anel lactônico dos bufadienolídeos é formado por cinco carbonos, C24 (3) com uma γ -lactona-di-insaturada (= pentadienolídeo). O nome bufadienolídeo é derivado de *Bufo*s (gênero de anfíbio) (Gaignault e Bidet, 1988).

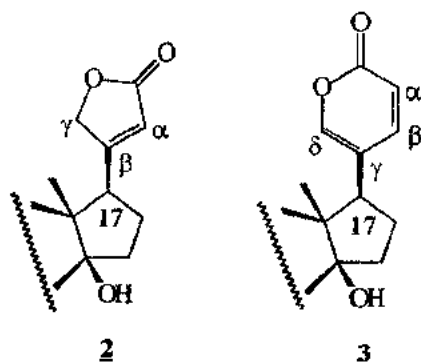


Figura 3. Tipos estruturais das geninas cardioativas, conforme a estrutura do anel lactônico

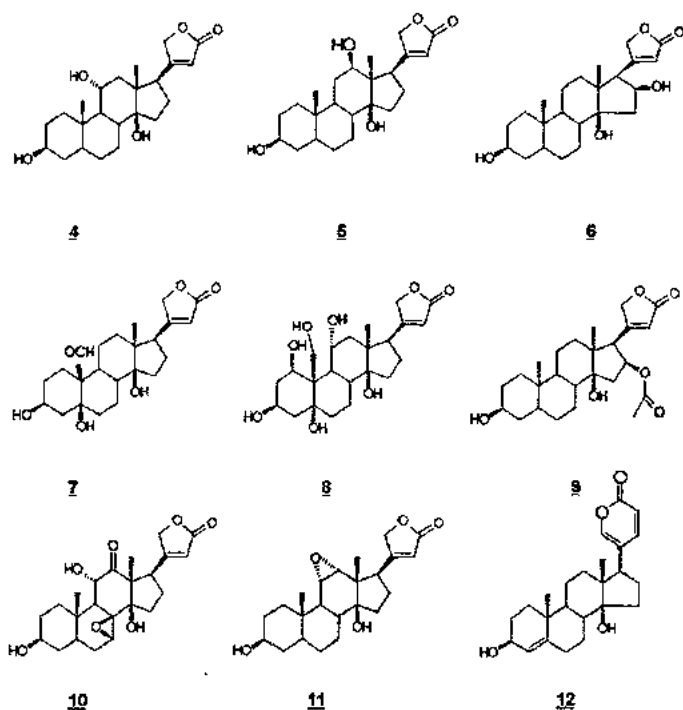


Figura 4. Exemplos de variações estruturais nas geninas esteroidais cardioativas

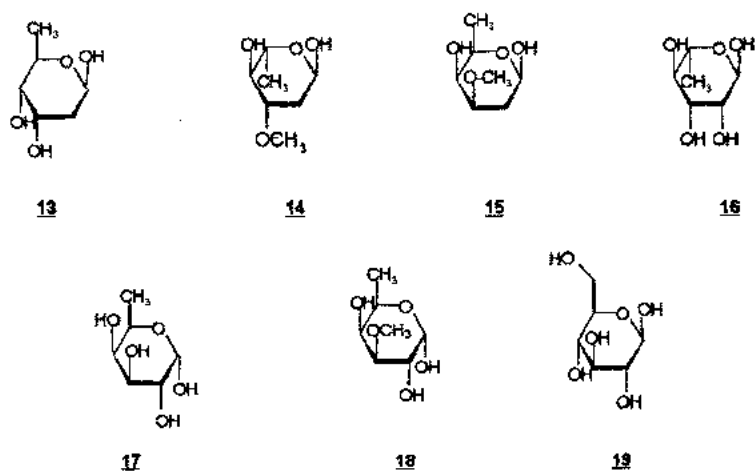


Figura 5. Exemplos de açúcares presentes nos heterosídeos cardioativos

As variações estruturais são bastante restritas (figura 4) e consistem na presença de funções hidroxilas suplementares em C-11 α (sarmentogenina 4), em C-12 β (digoxigenina 5), em C-16 β (gitoxigenina 6), em C-5 β (k-estrofantidina 7), ou em várias posições (ouabagenina 8). Uma das hidroxilas pode, eventualmente, estar esterificada pelo ácido fórmico (gitaloxigenina) ou pelo ácido acético (oleandrogenina 9). A oxidação pode, igualmente, se manifestar pela existência de uma cetona em C-12 como na sarverogenina 10, ou por um epóxido em C-11,12, no caso da cerbertigenina 11 ou C-7,8 na sarverogenina. Não é raro que a metila angular em C-10 seja oxidada em hidroóxi-metila (ouabagenina) ou em aldeído (k-estrofantidina). Excepcionalmente, o ciclo C pode estar insaturado, como no gênero *Thevetia*. Em um caso específico, na cilarinina 12, ocorre uma dupla ligação entre os carbonos 4 e 5, o que confere uma certa planaridade à molécula (Bruneton, 1993).

4. 2. Estrutura da parte osídica

Dentre os resíduos de açúcar mais usualmente encontrados, podem ser destacadas as 2,6-didesóxi-hexoses, como a β -D-digitoxose 13; as 2, 6-didesóxi-3-metil-hexoses, como a α -L-oleandrose 14 ou a β -D-diginose 15. Ao lado dessas oses particulares, são encontradas, igualmente, as 6-desóxi-hexoses (α -L-ramnose 16, β -D-fucose 17) e 6-desóxi-3-metil-hexoses como a α -L-tevetose ou 6-desóxi-3-metil-L-glicose e a β -D-digitalose 18. A molécula de glicose 19 pode igualmente estar presente nessas estruturas heterosídicas. A 2,6-didesóxi-hexose, também chamada 2-desóxi-metilpentose, aparece frequentemente metilada ou acetilada na posição C-3 (figura 5).

5. RELAÇÃO ESTRUTURA-ATIVIDADE

Em geral, os heterosídeos cardioativos são mais potentes do que as geninas correspondentes, porém causam efeitos tóxicos similares (Hoffman e Bigger, 1991). A porção genina do heterosídeo retém a atividade cardíaca, mesmo quando isolada. Porém, a porção osídica confere propriedades de solubilidade, importantes na absorção e distribuição dessas moléculas, e a conformação e a estereoquímica dos açúcares influenciam a afinidade da ligação pelo sítio ligante da proteína receptora (Fullerton et al, 1984 *cit.* Fraga e Barreiro, 1996).

A atividade cardiotônica dos heterosídeos pressupõe a existência de alguns fatores estruturais essenciais ou, pelo menos, favoráveis à atividade (Hoffman e Bigger, 1991; Fraga e Barreiro, 1996) descritos abaixo e sumarizados na tabela 1.

Ciclo lactônico: a existência de um encadeamento do tipo $X=C-C=C$ (em que X é um heteroátomo) é fundamental. Em qualquer caso, a substituição do C-17 tem de ser orientada em β . Modificações da γ -lactona α,β -insa-

TABELA 1

Características estruturais relacionadas com a atividade dos heterosídeos digitálicos

Parte da molécula	Característica fundamental	Característica favorável	Característica desfavorável
<i>Ciclo lactônico</i>	C-17 em β ; encadeamento tipo $X=C-C=C$	-	-
<i>Anel esteroidal</i>	ciclos C/D em <i>cis</i>	A/B/C/D em <i>cis/trans/cis</i>	A/B em <i>trans</i> insaturação parcial do anel A
<i>Substituintes</i>	C-14 em β	C 3 em β -OH terc. em C-14	C-3 em α
<i>Cadeia osídica</i>	-	ligação com orientação β em C-3; 5-desóxi-açúcares	esterificação ou cetalização das hidroxilas osídicas

turada, como a epimerização em C-17 ou a sua saturação, diminuem acentuadamente a atividade dos novos derivados formados. A epimerização ocasiona a abertura do anel lactônico, sendo o isômero C-17 α inativo. A importância da γ -lactona em C-17 β foi investigada em derivados da digitoxigenina substituídos nessa posição, por outros grupos funcionais α,β -insaturados, estruturalmente relacionados aos heterosídeos da família dos cardenolídeos. A atividade cardiotônica dessa classe de fármacos tem sido relacionada à capacidade da cadeia lateral polarizar-se na vizinhança do sítio receptor para uma forma na qual o heteroátomo possui carga parcial negativa, enquanto o átomo de C-20 β apresenta caráter parcialmente positivo.

Anel esteroidal: a atividade é máxima quando o encadeamento dos ciclos A/B/C/D é *cis/trans/cis*. A atividade é fortemente diminuída, cerca de dez vezes, quando o ciclo A e B estão em *trans* (ex.: uzarigenina). Os ciclos C e D devem estar obrigatoriamente em *cis*. Se o ciclo A é parcialmente insaturado, como no caso dos heterosídeos da cila, a atividade é ainda mais reduzida.

Os substituintes: a inversão da configuração β do C-3 diminui a atividade, mas os compostos 3-desóxi não são completamente inativos. A orientação C-14 β parece muito importante para a atividade, sendo a presença de uma hidroxila terciária nesta posição também um elemento bastante favorável, mas não fundamental. A 14-epidigitoxigenina é inativa, enquanto a 14-desóxi-digitoxigenina (14 β -H) é ligeiramente ativa. Os derivados 8,14- β,β -epóxi são inativos. Em geral, a introdução de grupos funcionais oxigenados tende a reduzir a atividade inotrópica positiva.

Subunidade osídica: essa subunidade dos heterosídeos cardioativos tem sido largamente estudada com a síntese de derivados monossacarídicos e dissacarídicos da digitoxigenina. Dentre as várias informações obtidas através desses estudos, pode-se destacar a potência superior dos heterosídeos em

relação às respectivas geninas, visto que os resíduos de oses protegem a hidroxila em C-3 β . O bloqueio das hidroxilas das oses, por esterificação ou por cetalização, reduz a atividade inotrópica, mostrando que tais grupos contribuem para a interação com o biorreceptor; os 5-desóxi-açúcares são mais ativos que os respectivos álcoois, indicando que as posições dos carbonos 2, 3 e 4 de monossacarídeos e as posições 2 e 3 em dissacarídeos contribuem efetivamente para interação específica com o biorreceptor.

Nenhuma das modificações estruturais até agora estabelecidas nessa série permite melhorar a qualidade dos heterosídeos naturais, sobretudo, não se tem conseguido obter margens terapêuticas mais amplas.

6. PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS

Geralmente, os heterosídeos são preferencialmente solúveis em água e ligeiramente solúveis no etanol e clorofórmio. A polaridade da molécula depende da presença ou ausência de hidroxilas suplementares, que determinam o grau de lipofilia e definem a farmacocinética dos heterosídeos cardioativos. A digitoxina, genina com uma só hidroxila livre, por exemplo, é muito mais solúvel em clorofórmio que a digoxina, com duas hidroxilas livres. Esta última é bastante solúvel em etanol diluído e também na mistura etanol-clorofórmio e pouco solúvel em acetato de etila. Os heterosídeos primários, como o lanatosídeo, são hidrossolúveis, solúveis no dióxano, muito pouco solúveis em clorofórmio (1 g em 2 L) e quase insolúveis em metanol. A presença do anel lactônico nesses compostos torna a molécula frágil, podendo haver a sua abertura em meio alcalino (British Pharmacopoeia, 1988; The Merck Index, 1996).

7. OBTENÇÃO E ANÁLISE

Devido ao baixo conteúdo de heterosídeos cardioativos presentes nas plantas, os extratos, para a caracterização desses compostos, devem ser purificados e concentrados. Para extração dos heterosídeos primários, são utilizadas plantas frescas ou submetidas a operações de estabilização (p. ex.: congelamento). Por inativação enzimática ocorre a conservação da cadeia de açúcares. A passagem da planta pela operação de secagem ocasiona a perda da molécula de açúcar terminal, com obtenção dos heterosídeos secundários (Paris e Moyse, 1976).

A técnica habitual para a extração, principalmente da digitoxina (figura 6), consiste na extração a quente com misturas hidroalcoólicas, precipitação de macromoléculas interferentes com acetato de chumbo e partição com solventes de média polaridade, como clorofórmio (British Pharmacopoeia, 1988). Na solução clorofórmica são realizadas as reações de caracterização e análise.

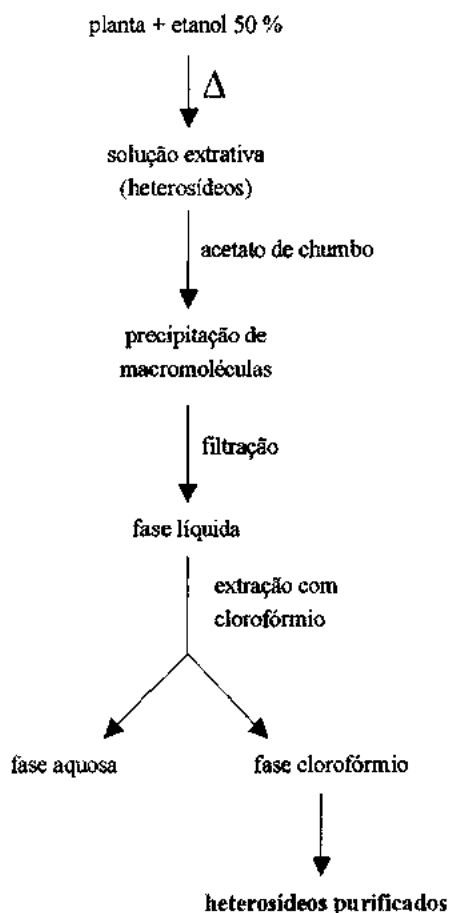


Figura 6. Esquema geral de extração dos heterosídeos cardioativos

se cromatográfica. Essas reações, em geral, constituem-se de técnicas colorimétricas e são direcionadas a cada componente da molécula, conforme sua natureza química: núcleo esteroidal, ciclo lactônico e cadeia osídica. Outros heterosídeos podem ser obtidos diretamente da solução hidroalcoólica dependendo do seu grau de hidroxilação. Para a obtenção das geninas cardiotônicas livres, procede-se a hidrólise da solução extrativa hidroalcoólica com ácido sulfúrico 1 M ou hidrólise enzimática (Wagner et al., 1993).

7.1. Caracterização dos açúcares

As únicas reações que apresentam interesse são as específicas da 2,6-didesóxi-hexose. A reação de coloração de *Pesez* é conhecida como reação do xantidrol. O resíduo clorofórmico obtido na extração é levado à secura e dissolvido em ácido acético concentrado. A essa solução é adicionado o reativo de xantidrol. Com aquecimento, há o desenvolvimento de coloração vermelha na presença desses açúcares (British Pharmacopoeia, 1988).

Outra reação muito utilizada é a de *Keller-Kiliani*: adição de ácido sulfúrico concentrado à solução de heterosídeos em ácido acético concentrado, contendo sais férricos. Forma-se um anel vermelho pardo e a solução acética adquire lentamente coloração azul-esverdeada. Heterosídeos, como a ouabaina, em que a parte osídica é uma ramnose, isto é uma 6-desóxi-hexose, não resultam em reação positiva (falso-negativo), mas outros heterosídeos não cardioativos da 2,6-didesóxi-hexose como digitanol, resultam em falso-positivo. A reação de *Keller-Kiliani* é considerada como um ensaio particular dos desóxi-açúcares e dos heterosídeos facilmente hidrolisáveis que os contêm, diretamente ligados às geninas. Porém, quando os extremos das cadeias glicídicas aparecem formados por radicais de glicose, o ensaio é negativo, mesmo quando possuem desóxi-açúcares (Costa, 1967).

7.2. Caracterização das geninas

As reações atribuídas à estrutura particular das geninas carecem de especificidade e, desse modo, todas as reações para o núcleo esteroidal são válidas. No caso dos cardenolídeos, é interessante recorrer a reações específicas devido à existência da γ -lactona α,β -insaturada: reações de *Kedde* e *Baljet*. O ponto comum entre essas reações é a utilização de um derivado aromático nitrado em meio alcalino (hidróxido de sódio).

A reação de *Kedde* utiliza o ácido 3,5-dinitrobenzóico resultando em coloração vermelho-violácea estável. O ensaio de *Baljet* utiliza ácido pícrico e seu resultado é uma coloração laranja estável. Esses testes apresentam-se negativos para os saponosídeos esteroidais e negativos ou muito pouco sensíveis para os bufadienolídeos. Os heterosídeos digitanol resultam em falso-positivo (Bruneton, 1993).

Em substituição à reação de *Kedde* pode ser utilizada a reação de *Raymond-Marthoud*, com *m*-dinitrobenzeno em meio alcalino, que determina o aparecimento de coloração laranja ou violeta fugaz. Essa reação é positiva para os heterosídeos e geninas de anel γ -lactônico, sendo que os bufadienolídeos não reagem (Paris e Moyse, 1976).

A reação de *Legal* é devida ao anel pentagonal insaturado em α,β das geninas e seus heterosídeos cardenolídeos, quando a solução da substância alcalinizada adquire cor vermelha após a adição de nitroprussiato de sódio.

Com a saturação do anel, a reação é negativa. O ensaio mostra-se também negativo com os bufadienolídeos (Costa, 1967).

Os heterosídeos cardioativos em meio ácido desidratante resultam em derivados fluorescentes, sendo que a sensibilidade dessas reações varia segundo o tipo de geninas. Ocorre a formação de derivados 14(15)-de-hidro e, no caso das geninas substituídas em C-16, os derivados 14(15)-16(17)-dides-hidro. A fluorescência é muito mais intensa no último caso, em que a triona formada tem três duplas ligações conjugadas à carbonila. Essas reações são, sobretudo, interessantes como agentes de revelação em cromatografia de camada delgada (CCD) (Wagner et al., 1993).

7.3. Análise cromatográfica

A British Pharmacopoeia (1988) preconiza o método de CCD utilizando como suporte gel de sílica G; fase móvel, acetato de etila: metanol: água (75: 10: 7,5 V/V/V); detecção com ácido tricloroacético em etanol (96%), solução de cloramina T, aquecimento de 100 a 105°C por 10 minutos e observação subsequente sob luz ultravioleta (365 nm), do aparecimento de bandas fluorescentes (azul, amarela).

Um segundo sistema cromatográfico utiliza como suporte gel de sílica 60F₂₅₄; fase móvel, acetato de etila: metanol: água (81: 11: 8 V/V/V); detecção com reagente de Kedde. Imediatamente após a nebulização da placa cromatográfica com o reagente, aparecem bandas coloridas de azul à vermelho-violeta. Outro agente cromogênico empregado é cloreto de antimônio (SbCl₃) (Wagner et al., 1993).

7.4. Análise quantitativa

A maioria das farmacopéias preconiza o doseamento fotocolorimétrico em 540 nm, utilizando o princípio das reações de Kedde e Baljet para doseamento das geninas do tipo cardenolídeo. A USP XXII (1990) adota o doseamento biológico, através da determinação das concentrações mínimas de soluções extrativas hidroalcoólicas capazes de produzir, em circunstâncias padronizadas, a morte de pombos. A potência da droga é calculada a partir da preparação-ensaio, sendo satisfatória se o resultado não for inferior a 0,85 unidades digitais USP por 100 mg.

São também relatados na literatura a utilização da CLAE em fase reversa, densitometria e medidas enzimáticas. Ikedda et al. (1996) descrevem a determinação quantitativa dos heterosídeos de *Digitalis lanata* Ehrh. através de densitometria direta (225 nm), usando CCD em fase reversa. A determinação enzimática é baseada na inibição da atividade Na⁺, K⁺ ATPase e apresenta sensibilidade superior ao método colorimétrico de Baljet e ao teste imunoenzimático ELISA (Vignola e Canella, 1982).

8. FARMACOLOGIA

8.1. Emprego terapêutico

Os heterosídeos cardioativos são recomendados para o tratamento da insuficiência cardíaca congestiva (ICC), geralmente em associação a diuréticos, em particular quando existe uma fibrilação auricular; na profilaxia e tratamento de algumas arritmias como fibrilação atrial, *flutter* atrial, taquicardia atrial paroxística e, ainda, no tratamento de choque cardiogênico, especialmente quando é acompanhado de edema pulmonar (Fuchs e Wannmacher, 1992; Johnson e Lalonde, 1992; Kelly e Smith, 1996). Contudo, na literatura consta que a digoxina, por exemplo, não reduz a mortalidade total, mas diminui a taxa de hospitalização geral juntamente com a redução de internações devidas à insuficiência cardíaca (Clausen, 1998). Esses fármacos são contra-indicados nos casos de fibrilação ventricular, bloqueio aurículo-ventricular e na idiosincrasia aos digitálicos (Kelly e Smith, 1996).

8.2. Mecanismo de ação

Na ICC há uma redução da contractibilidade, com conseqüente aumento do resíduo pós-sistólico do consumo de oxigênio e da frequência cardíaca. Consecutivamente, ocorre uma vasoconstrição, diminuição do débito renal, retenção hidrossódica e edema. Um cardioativo aumenta o débito cardíaco, melhora o retorno venoso, diminui a resistência à injeção. O débito renal e a diurese aumentam, o consumo de oxigênio diminui e a frequência cardíaca é retardada. Além disso, entre as respostas fisiológicas associadas à insuficiência cardíaca está um aumento na atividade do sistema nervoso simpático. A administração de heterosídeos cardioativos a pacientes com insuficiência cardíaca aumenta o índice cardíaco e o fluxo sanguíneo no antebraço, com redução da frequência cardíaca, enquanto diminui, de forma acentuada, a atividade do nervo simpático no músculo esquelético, um indicador de tônus do sistema nervoso simpático com mediação central. Uma redução na ativação neuro-humoral pode representar um mecanismo adicional importante para a eficácia dos heterosídeos cardioativos no tratamento da insuficiência cardíaca (Fuchs e Wannmacher, 1992; Johnson e Lalonde, 1992; Kelly e Smith, 1996).

No músculo cardíaco, os glicosídeos cardioativos exercem sua atividade agindo sobre a contractibilidade, condutibilidade e automaticidade. Os efeitos são traduzidos por modificações eletrocardiográficas regularmente observadas no decorrer do tratamento.

Em relação à contractibilidade, esses compostos exercem uma ação inotrópica positiva. Inotropia é a propriedade que tem o coração de se contrair desenvolvendo uma força. A contração é reforçada em força e velocidade, enquanto que os tempos de injeção são reduzidos. O incremento da contractibilidade na

insuficiência cardíaca resulta em um esvaziamento ventricular mais completo e em um encurtamento na duração da sístole. Desse modo, o coração tem maior tempo de repouso entre as contrações. O resultado do aumentado rendimento cardíaco e da circulação é também o melhoramento da secreção renal, diminuindo os edemas associados com a insuficiência cardíaca (Kelly e Smith, 1996). Várias hipóteses foram propostas para elucidar o mecanismo da ação inotrópica positiva dos digitálicos. A teoria mais aceita atualmente propõe a ligação específica e com alta afinidade a biorreceptores da membrana da célula miocárdica, sendo o sítio de ligação dos digitálicos a subunidade α de uma ATPase Na^+/K^+ , que uma vez ocupado, provoca a paralisação da bomba Na^+/K^+ . Tal inibição causa aumento dos níveis intracelulares de Na^+ , que, por sua vez, modulam a atividade de um carreador de membrana envolvido nas trocas de íon Ca^{++} por íons Na^+ , promovendo considerável elevação dos níveis intracelulares de Ca^{++} , por influxo ou pela mobilização dos reservatórios sarcoplasmáticos (Clausen, 1998) (figura 7). O Ca^{++} nas proximidades das miofibrilas interage com a troponina (T), a qual conduz a uma alteração conformacional na tropomiosina (TM), possibilitando a formação do complexo actina (A)-miosina (M), induzindo a contração miocárdica ATP-dependente (Robbers et al., 1996) (figura 8).

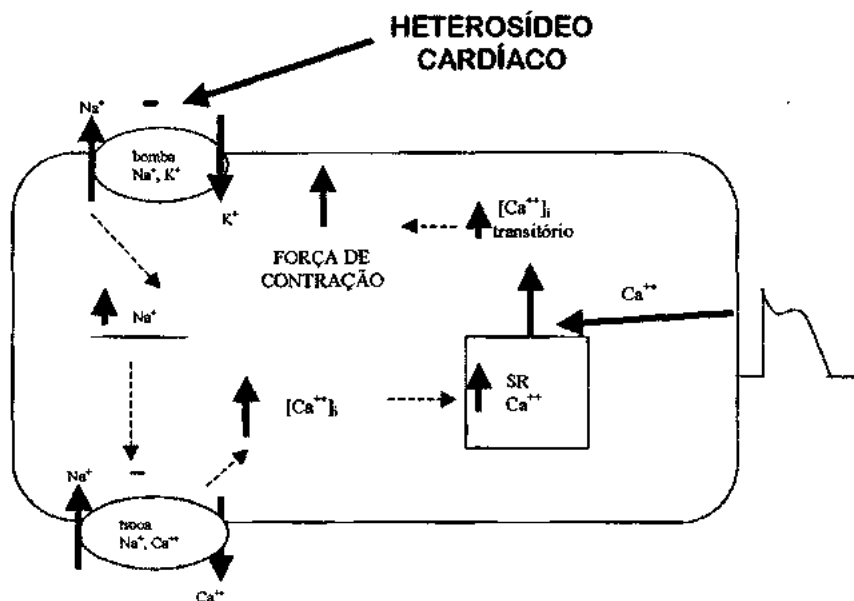


Figura 7. Diagrama esquemático da hipótese da inibição ATPase Na^+/K^+ pelos digitálicos no músculo cardíaco (adaptado de Clausen, 1998)

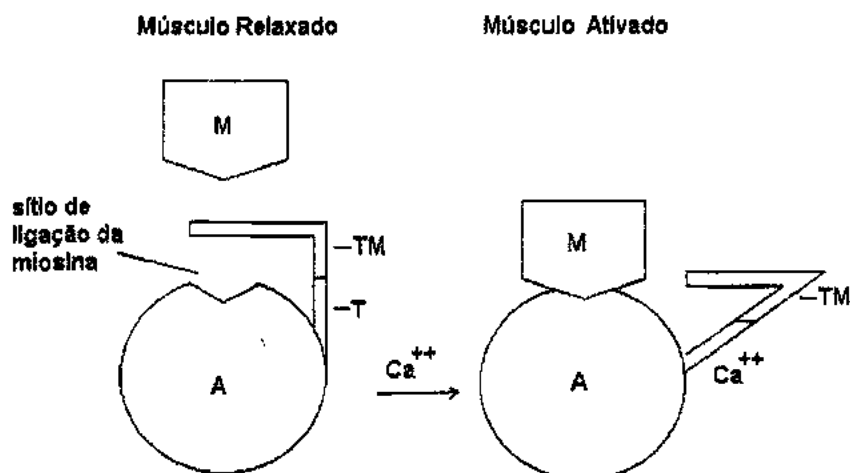


Figura 8. Diagrama esquemático da interação das proteínas contráteis durante a contração do músculo cardíaco (adaptado de Robbers et al., 1996)

A condutibilidade do músculo cardíaco é retardada por todos os heterosídeos desse grupo. Essa ação domotrópica negativa tem origem colinérgica e se traduz por um relaxamento na velocidade de condução da junção átrio-ventricular (Johnson e Lalonde, 1992; Kelly e Smith, 1996).

Na automaticidade, os heterosídeos cardioativos apresentam ação cronotrópica negativa, diminuindo a frequência sinusal de 20 a 40% por efeito parasimpatomimético indireto (Johnson e Lalonde, 1992; Kelly e Smith, 1996). Esse efeito está ligado a um sinergismo com acetilcolina e a uma perturbação dos movimentos iônicos do sódio e do potássio (Fuchs e Wannmacher, 1992).

8.3. Farmacocinética

A farmacocinética dos cardioativos é estreitamente dependente da polaridade das moléculas, ou seja, do grau de hidroxilação das geninas. Em geral, quanto mais grupamentos hidroxila na molécula mais rápido inicia a ação e subsequente eliminação dos heterosídeos pelo organismo. Algumas, como a digitoxina, possuem elevada lipossolubilidade, apresentam degradação hepática, eliminação lenta e duração de efeito de até 7 dias. Outras, como a ouabaina não possuem lipossolubilidade (a genina tem 6 OH), apresentam eliminação rápida e a duração do efeito é de 12 horas. Essa última é utilizada apenas em casos de emergência, enquanto que a digitoxina é utilizada visando à manutenção do efeito (Hoffman e Bigger, 1991; Johnson e Lalonde, 1992). Na tabela 2 é apresentada a relação entre absorção e polaridade e na tabela 3, uma comparação entre a farmacocinética da digoxina e digitoxina no homem.

TABELA 2
Relação entre a absorção dos glicosídeos cardioativos
e seus respectivos coeficientes de partição (P) (CHCl₃/16% aq. MeOH)

Digitálico	n° de OH	P	absorção GI (%)
lanatosídeo	8	16,2	10 - 40
digoxina	6	81,5	70 - 85
digitoxina	5	96,5	100
acetildigoxina	5	98	-----

Fonte: Mangold e Langner (1990) p. 359.

TABELA 3
Parâmetros farmacocinéticos da digoxina e digitoxina no homem

Parâmetro	digoxina	digitoxina
Dose digitalizante média		
<i>oral</i>	0,75 - 1,25 mg	0,8 - 1,2 mg
<i>iv</i>	0,5 - 1,0 mg	
Dose de manutenção diária		
<i>oral</i>	0,125 - 0,5 mg	0,05 - 0,3 mg
<i>iv</i>	0,25 mg	
Início do efeito		
<i>oral</i>	1,5 - 6 h.	3 - 6 h.
<i>iv</i>	5 - 30 min.	
Efeito		
<i>oral</i>	4 - 6 h.	6 - 12 h.
<i>iv</i>	1,5 - 4 h.	
Absorção intestinal	40 - 100 %	90 - 100 %
Ligação com proteínas plasmáticas	25 %	95 %
Meia-vida	1,6 dias	7 dias
Eliminação	excreção renal do fármaco inalterado	excreção renal de metabólitos
Circulação entero-hepática	pequena	grande
Concentração plasmática terapêutica	0,5 - 2,0 ng/mL	10 - 35 ng/mL

Fonte: Hoffman e Bigger (1991) p. 536-552.

O principal reservatório tecidual desses agentes cardíacos é o músculo esquelético e não o tecido adiposo. Portanto, a dosagem deve basear-se na massa corporal magra estimada. Os neonatos e os lactentes parecem necessitar de doses mais elevadas de heterosídeos digitálicos para obter efeito terapêutico equivalente ao das crianças maiores ou adultos, embora a absorção e as taxas de depuração renal sejam semelhantes. A digoxina atravessa a placenta e os níveis do fármaco no sangue materno e na veia umbilical são semelhantes (Kelly e Smith, 1996).

Os heterosídeos digitálicos são eliminados essencialmente sob forma não-modificada (50 a 70%). Sua biotransformação se faz principalmente pela

hidrólise da ligação glicosídica em C-3 β seguindo-se por etapas de oxidação de C-3 e subsequente epimerização e conjugação com ácido glicurônico para produzir o principal produto de eliminação detectável na urina sob a forma do glicuronato (Mangold e Langner, 1990).

8.4. Toxicidade e efeitos adversos

A toxicidade e as reações adversas dos digitálicos advêm geralmente do seu baixo índice terapêutico, pois a concentração capaz de causar efeitos tóxicos é apenas duas vezes superior à concentração terapêutica (1 a $2 \cdot 10^{-9}$ M). Essas reações podem ser cardíacas ou não-cardíacas, mas sempre dose-relacionadas (Aronson, 1992). A quantidade de heterosídeos cardíacos que deve ser utilizada no tratamento da ICC varia de acordo com o paciente e o fármaco empregado. Devido a isso, a dosagem deve ser experimentalmente avaliada para cada paciente. Níveis plasmáticos de digoxina acima de $2,5$ ng/mL podem produzir sintomas de toxicidade. O monitoramento plasmático do fármaco pode ser feito por técnicas de radioimunoensaio (Robbers et al., 1996).

A maioria das intoxicações ocorre em pacientes em uso crônico do fármaco, por excesso de impregnação ocorrida com dosagens consideradas terapêuticas, ou pela presença de fatores predisponentes à intoxicação. A intoxicação moderada produz sintomas como vômitos, náuseas, anorexia, bradicardia e contrações ventriculares prematuras. A intoxicação aguda por doses elevadas causa diarreia, visão borrada, suor frio, taquicardia e fibrilação ventricular, podendo ocorrer a diminuição do pulso a até 35 batidas por minuto, convulsões, síncope e morte. Os distúrbios gastrintestinais também podem estar associados a uma intolerância local (Hoffman e Bigger, 1991).

Os efeitos adversos que ocasionalmente podem ocorrer são os transtornos neuropsíquicos, assim como fadiga, depressão, cefaléia, sonolência, letargia, fraqueza, neuralgia, pesadelos, inquietação, confusão, vertigem, desorientação, mudanças de personalidade e, mais raramente, alucinações, com alteração na percepção das cores, e outras reações psicóticas (Candau, 1989).

Algumas precauções devem ser tomadas em relação ao consumo dos cardiopativos em casos de graves riscos de intoxicação. Nessas situações, é aconselhável que sejam usados heterosídeos de ação curta e rápida eliminação. Fatores e situações clínicas predisponentes à intoxicação digitálica incluem idade avançada, infarto do miocárdio, miocardite, cirurgia cardíaca recente, insuficiência renal, alcalose, hemodilúse, hipotireoidismo, anoxia e alterações eletrolíticas, como a hipopotassemia, hipercalcemia e hipomagnesemia (Candau, 1989).

A toxicidade também pode ser decorrente de interações medicamentosas. Entre as mais importantes estão as interações com β -bloqueadores, por causarem bradicardia excessiva, e com substâncias que alteram o equilíbrio hidroeletrólítico. Pacientes que fazem terapia concomitante com fármacos depletos de potássio, como os diuréticos tiazida e mineralocorticóides; inibidores da anidrase car-

bônica ou anfotericina B, que aumentam a possibilidade de toxicidade dos digitálicos causada pela hipopotassemia, podem requerer potássio suplementar ou a redução da dosagem. Inversamente, para pacientes tratados com glicosídeos cardioativos não se deve recomendar a ingestão excessiva de produtos absorvíveis contendo cálcio, por exemplo: leite, gluconato de cálcio, fosfato de cálcio dibásico ou tribásico, bem como cálcio parenteral, porque provocam a hipercalemia que potencializa os efeitos cardíacos (Hoffman e Bigger, 1991).

Intoxicações também podem ocorrer pelo uso de substâncias que alteram a farmacocinética dos cardioativos, como antimuscarínicos, hidroxicloroquina, quinidina ou quinina e bloqueadores de canal de cálcio (diltiazem e verapamil), por aumentarem as concentrações séricas dos cardioativos e conseqüentemente resultarem em bradicardia excessiva; rifampicina, por reduzir os níveis séricos da digoxina em lactentes prematuros, entre outros (Bigger, 1985).

Por outro lado, muitas substâncias podem reduzir a eficácia dos heterosídeos cardioativos, como antiácidos adsorventes antidiarréicos, colestiramina, colestipol, fibras dietéticas em grandes quantidades, laxantes, neomicina oral ou sulfasalazina, por inibirem a absorção e assim reduzir a biodisponibilidade dos cardioativos (Bigger, 1985). *Hypericum perforatum* L. diminui a absorção intestinal dos glicosídeos cardioativos através da indução da glicoproteína P, que atua como transportador desses compostos (Riesgo, 2000).

O tratamento da intoxicação digitálica compreende três grupos de procedimentos principais: medidas gerais de apoio, controle das complicações e eliminação do fármaco. Entre as medidas de apoio e controle das complicações estão a administração de KCl, fenitoína e lidocaína e, em casos indicados, a cardioversão elétrica e a administração de magnésio e quelantes de cálcio (Candau, 1989). A eliminação do fármaco pode ser realizada por hemodiálise e hemoperfusão, que têm sua aplicação limitada pela alta taxa de agregação tissular dos digitálicos. Se a intoxicação foi induzida por ingestão voluntária, é possível a utilização de eméticos, como xarope de *Psychotria ipecacuanha* (Brot.) Stokes (= *Cephaelis ipecacuanha* (Brot.) A. Rich.), desde que até uma hora após a ingestão. Atualmente, encontra-se disponível um antídoto eficaz contra a intoxicação provocada por digoxina ou digitoxina, na forma de imunoterapia antidigoxina. Fragmentos *Fab* purificados provenientes do anti-soro antidigoxina ovina encontram-se disponíveis na maioria dos centros de controle ao envenenamento e nos grandes hospitais na América do Norte e Europa, mas seu alto custo limita sua aplicação (Kelly e Smith, 1996).

9. DROGAS VEGETAIS CLÁSSICAS

As principais drogas que abastecem o mercado são derivadas do gênero *Digitalis*: *D. purpurea* L. (digitoxina) e *D. lanata* Ehrh. (digitoxina e digoxina). Essas espécies cobrem cerca de 90% da produção total dos heterosídeos cardioativos, que são obtidos exclusivamente de fontes naturais (Bruneton, 1993). Outros

heterosídeos cardíacos importantes são derivados das sementes de *Strophanthus gratus* (Wall. et Hook.) Baill., que contém ouabaina; do bulbo de *Urginea maritima* (L.) Baker, que é usada em alguns países europeus, de *Thevetia peruviana* (Pers.) K. Schum. e de *Nerium oleander* L. entre outros (Hollman, 1985). Essas drogas não são utilizadas *in natura*. As formas galênicas contendo extratos desses vegetais têm uma atividade instável e praticamente têm sido abandonadas em benefício dos heterosídeos puros obtidos pela extração industrial. Na tabela 4 estão sumarizadas as principais fontes e os componentes da estrutura química dos principais heterosídeos cardioativos de interesse clínico.

Nos anos de 1990, a digoxina tornou-se o heterosídeo cardíaco mais prescrito, devido à sua farmacocinética conveniente, às vias alternativas de administração e à disponibilidade de técnicas de monitoramento sérico (Kelly e Smith, 1996; Hauptman e Kelly, 1999).

TABELA 4

Principais fontes e os componentes da estrutura química dos principais heterosídeos cardioativos de interesse clínico

Fonte vegetal	Precursor (heterosídeo primário)	Resíduo liberado pela hidrólise enzimática ou alcalina	Heterosídeo	Resíduo liberado pela hidrólise ácida	Aglicona ou genina
<i>Digitalis purpurea</i> (folha)	purpúrea-glicosídeo A	glicose	digitoxina	digitoxose (3)	digitoxigenina
	purpúrea-glicosídeo B	glicose	gitoxina	digitoxose (3)	gitoxigenina
<i>Digitalis lanata</i> (folha)	lanatosídeo A	glicose +	digitoxina	digitoxose (3)	digitoxigenina
	lanatosídeo B	ác. acético	gitoxina		gitoxigenina
	lanatosídeo C		digoxina		digoxigenina
<i>Strophanthus kombe</i> <i>S. hispidus</i> (sementes)	estrofantosídeo K	glicose	estrofantina K	glicose +	estrofantina K
	estrofantosídeo K	glicose(2)	cimarina	cimarose	estrofantina K
		glicose	cimarina	cimarose	estrofantina K
	β-estrofantina K		cimarol	cimarose	estrofantina K
<i>Strophanthus gratus</i> (semente)	-	-	ouabaina (estrofantina G)	ramnose	ouabagenina (estrofantina G)
<i>Urginea maritima</i> (bulbo)	cilareno A	glicose	proscilaridina A	ramnose	cilaridina A

Adaptado de: Hollman (1985)

DIGITALIS

Nome científico: *Digitalis purpurea* L.

Sinonímia vulgar: dedaleira (F. Bras. III); erva-dedo; abeloura; seiva-de-nossa-senhora; erva-de-são-leonardo; luvas-de-nossa-senhora (Oliveira e Akisue, 1991).

Nome científico: *Digitalis lanata* Ehrh.

Sinonímia vulgar: digital-de-flor-amarela (Oliveira e Akisue, 1991).

Família botânica: Scrophulariaceae

Parte utilizada: folhas rapidamente dessecadas (BP, 1988; F. Bras. III).

Farmacopéias: *Digitalis purpurea* L. consta em diversas Farmacopéias, como na Alemã, Argentina, Americana, Britânica, Européia, Francesa, Japonesa, Mexicana, Russa, Sueca, entre outras. *Digitalis lanata* Ehrh. consta somente nas Farmacopéias Alemã e Australiana (Reynolds, 1993).

O gênero *Digitalis* compreende cerca de vinte espécies herbáceas de ocorrência essencialmente européia. *Digitalis purpurea* L. é uma erva bianual, com flores violáceas, originária do sudeste europeu, mas aclimatada em várias outras regiões da Europa, Estados Unidos e Canadá e cultivada na Holanda, Reino Unido e Alemanha (Bruneton, 1993). *Digitalis lanata* Ehrh. é encontrada apenas em cultivo, em diversos países da Europa Ocidental e Central, sendo utilizada para a extração industrial de cardioativos (Bruneton, 1993; Reynolds, 1993). A dessecação das folhas deve ser realizada rapidamente a uma temperatura tão baixa quanto possível e com intensa ventilação, para evitar a destruição dos heterosídeos. A droga deve ser estocada ao abrigo da luz em ambiente seco, com umidade residual aproximada de 5%. De qualquer maneira, a conservação é limitada.

Dados químicos:

As folhas das espécies de *Digitalis* contêm numerosos compostos como flavonóides, antraquinonas, saponosídeos, digitanol-heterosídeos e, os de maior interesse, heterosídeos cardioativos (Bruneton, 1993).

Todas as espécies do gênero contêm cardenolídeos, mas somente as espécies *D. purpurea* L. e *D. lanata* Ehrh. são utilizadas para a extração dos principais heterosídeos usados na terapêutica. Os principais heterosídeos encontrados nestas espécies são a digitoxina, digoxina, gitoxina e gitaloxina (Hollman, 1985; Gagnault e Bidet, 1988). A concentração destas substâncias ativas varia apreciavelmente com a fonte da planta e as condições de crescimento (Robbers et al., 1996). A estrutura básica dos heterosídeos de *Digitalis lanata* Ehrh. e *Digitalis purpurea* L. é a mesma. Porém, em *D. lanata* Ehrh. a molécula de digitoxose, vizinha à glicose terminal, caracteriza-se por apresentar a hidroxila acetilada em 3 ou 4 (Bruneton, 1991). Na figura 9 estão apresentadas esquematicamente as estruturas das principais geninas e heterosídeos presentes neste gênero.

Composição química de Digitalis purpurea L.:

As folhas secas de *Digitalis purpurea* L. contêm não menos do que 0,3%

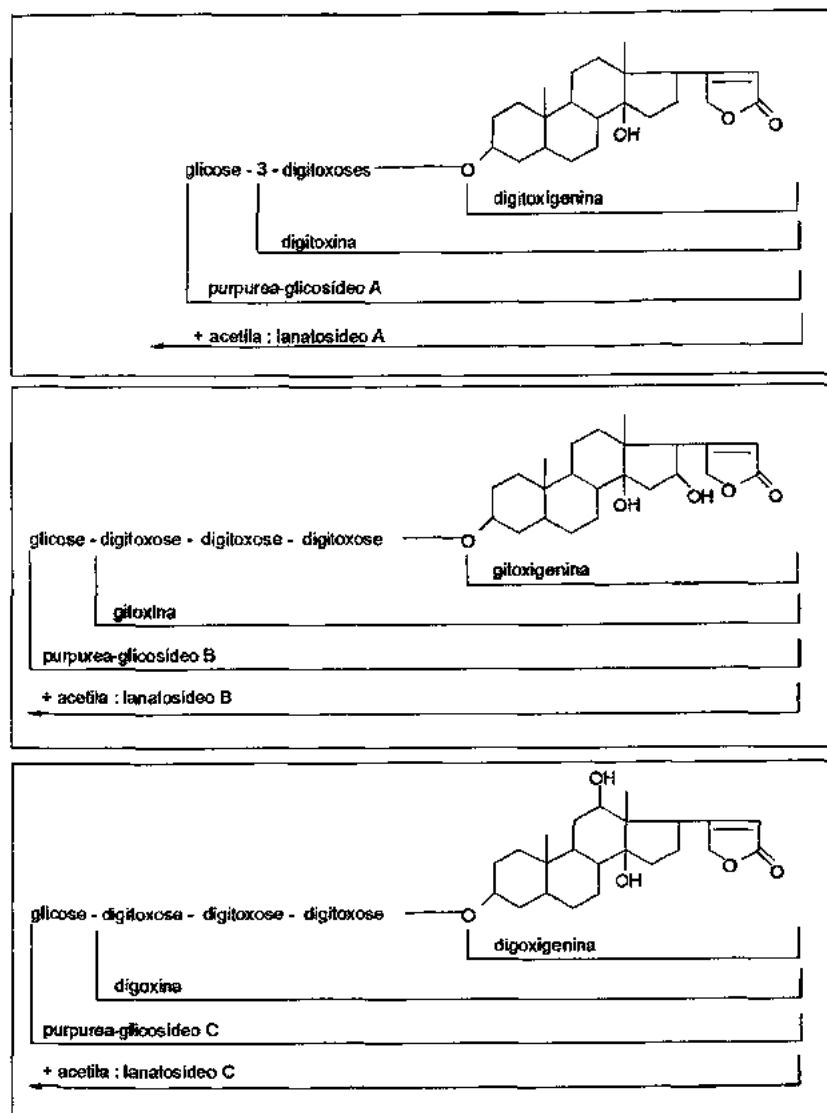


Figura 9. Principais heterosídeos e geninas cardiotônicas presentes em espécies de *Digitalis* (adaptado de Gagnault e Bidet, 1988)

de heterosídeos cardíacos (BP, 1988). O pó padronizado das folhas contém 0,36% a 0,44% de heterosídeos cardioativos calculados como digitoxina (Reynolds, 1993). Entre os numerosos heterosídeos encontrados têm-se a digitoxina, gitoxina e a gitaloxina (Reynolds, 1993), representando três grupos de acordo com a estrutura das geninas (Gagnault e Bidet, 1988):

No GRUPO A, a genina é a digitoxigenina ($3\beta, 14\beta$ -di-hidróxi). O heterosídeo primário é o purpúrea-glicosídeo A, constituído pela união de quatro oses (uma glicose e três digitoxoses) ligadas à hidroxila da posição C-3 da digitoxigenina. Por hidrólise enzimática obtém-se o heterosídeo secundário (perda de uma glicose), chamado de digitoxosídeo ou digitoxina ou, ainda, digitalina.

A genina no GRUPO B é a gitoxigenina ($3\beta, 14\beta, 16\beta$ -tri-hidróxi). O heterosídeo primário é o purpúrea-glicosídeo B (glicose mais três digitoxoses e mais a gitoxigenina). O produto de hidrólise tem como glicosídeo secundário o gitoxosídeo ou gitoxina.

O terceiro constitui o GRUPO E, no qual genina é a gitaloxigenina (16-formil-gitoxigenina). O heterosídeo primário é o purpúrea-glicosídeo E ou glicogitaloxina e o secundário é a gitaloxina.

Composição química de Digitalis lanata Ehrh.:

As folhas secas de *Digitalis lanata* Ehrh. contém de 1 a 1,4% de uma mistura de heterosídeos cardíacos (Reynolds, 1993) distribuídos em grupos diferentes de compostos, de acordo com o tipo de genina (Gagnault e Bidet, 1988):

No GRUPO A, a genina é a digitoxigenina. O heterosídeo primário é o lanatosídeo A. Este difere do purpúrea-glicosídeo A pela presença de um grupamento acetila sobre a digitoxose mais distante da genina. Por ação de uma β -glicosidase o heterosídeo primário perde a glicose terminal formando o acetildigitoxosídeo ou acetildigitoxina. Por ação de uma esterase, perde o grupamento acetil originando digitoxosídeo ou digitoxina.

O GRUPO B, é dividido em dois subgrupos: ao subgrupo da gitoxigenina pertencem o lanatosídeo B (heterosídeo primário), o desacetilatanatosídeo B (purpúrea-glicosídeo B), o acetilgitoxosídeo e o gitoxosídeo e ao subgrupo da 16-formilgitoxigenina pertencem o lanatosídeo E e o acetilgitaloxosídeo. Esse grupo é pouco ativo fisiologicamente.

O GRUPO C é o mais importante, juntamente com o grupo A. Representa 30 a 40% dos heterosídeos totais. A genina é a digoxigenina ($3\beta, 12\beta, 14\beta$ -tri-hidróxi). O heterosídeo primário é o lanatosídeo C que é acompanhado de acetildigoxosídeo e de digoxosídeo (digoxina).

O último grupo e o menos importante terapeuticamente é o D, em que a genina corresponde à dignatigenina ($3\beta, 12\beta, 14\beta, 16\beta$ -tetra-hidroxilada) compreendendo o lanatosídeo D e heterosídeos secundários.

Emprego:

Digitalis purpurea L. foi empregada na preparação de formas galénicas simples (pó, tintura). Atualmente, é empregada, juntamente com *Digitalis lanata* Ehrh.,

para a extração industrial de heterosídeos. Essas espécies também são empregadas como matérias-primas para preparação de produtos homeopáticos.

ESTROFANTO

Nome científico: *Strophanthus gratus* (Wall. ex Hook.) Baill.; *S. kombe* Oliv.; *S. hispidus* DC.

Sinonímia científica para *S. gratus*: *Roupellia grata* Wall. et Hook.

Sinonímia vulgar: inea, onaya, kombé

Família Botânica: Apocynaceae

Parte utilizada: sementes

Farmacopéias: Ph. Franç. IX; F. Bras. II

O estrofantó é uma das plantas com atividade cardíaca mais importante e, por isso, era usada pelos povos africanos em doses tóxicas para preparar suas flechas envenenadas. A droga provém de plantas selvagens coletadas na África Ocidental (*S. gratus*) e na África Oriental (*S. kombe*; *S. hispidus*) (Bruneton, 1993). As sementes são submetidas a extração para obtenção das substâncias ativas, a estrofantidina G (*S. gratus*) e a estrofantidina K (*S. kombe* e *S. hispidus*) (Pharmacopée Française, 1976).

Composição química de Strophanthus gratus Baill.:

Essa planta contém de 3 a 7% de heterosídeos cardioativos, sendo o principal a estrofantina G (Bruneton, 1993), também conhecida por outras designações, como estrofantina gratus, acocanterina, gratibaina, astrobaina, ubaína e ouabaína (The Merck Index, 1996). Esse heterosídeo é formado pela união da genina ouabagenina (1,3,5,11,14,19-poli-hidroxilada) com a L-ramnose (Bruneton, 1993; Robbers et al., 1996). A ouabaína também pode ser obtida da madeira da *Acokanthera ouabaio* Lewin (Apocynaceae) (Robbers et al., 1996).

Composição química de Strophanthus kombe Oliv.:

Essa espécie contém de 5 a 10% de heterosídeos cardioativos por uma mistura de estrofantosídeos. São os estrofantosídeos K γ , β e α . O γ -estrofantosídeo é o heterosídeo primário. Os estrofantosídeos β e α são obtidos por hidrólise enzimática progressiva (Bruneton, 1993).

Emprego:

A ouabaína é indicada quando se precisa de ação rápida e breve sendo um medicamento de emergência administrado intravenosamente. Também é utilizada para estudos *in vitro* da atividade da enzima ATPase Na^+/K^+ . O estrofantó apresenta, ainda, propriedades diuréticas (Reynolds, 1989).

O fármaco pode ser empregado na insuficiência cardíaca aguda, principalmente nos paroxismos da insuficiência ventricular esquerda, na insuficiência assistólica não responsiva aos digitálicos, nas miocardites tóxi-infecciosas de coração regular e com ruído de galope, nas nefrites hidropígenas e nas taquicardias paroxísticas duráveis. Nas doses usuais, praticamente não há perigo de acumulação do fármaco (Reynolds, 1989).

CILA

Nome científico: *Urginea maritima* (L.) Baker

Sinonímia científica: *Urginea scilla* Steinh.; *Scilla maritima* L. (Oliveira e Akisue, 1991).

Sinonímia vulgar: albanã-branca; cebola-de-albanã; cebola-marítima (Oliveira e Akisue, 1991)

Família botânica: Asphodelaceae

Parte utilizada: escamas do bulbo (Vigneau, 1985; Oliveira e Akisue, 1991).

A cila é uma planta bulbosa vivaz da flora mediterrânea. Existem duas variedades: bulbo branco e bulbo vermelho, sendo que ambas possuem composição quantitativa e qualitativamente diferentes (Bruneton, 1993; Kreen et al., 1994). A droga é constituída pela variedade branca de *Urginea maritima* (Oliveira e Akisue, 1991).

Dados químicos:

O bulbo da cila é composto de frutanos, taninos condensados, flavonóides e heterosídeos cardioativos, contendo até 4% de bufadienolídeos, sendo o principal a cilarina A que compreende dois terços dos heterosídeos totais (Bruneton, 1993). Por hidrólise enzimática, produz o heterosídeo secundário proscilaridina A e ramnose. Por hidrólise ácida da proscilaridina A, obtém-se a aglicona cilaridina A e glicose (Gagnault e Bidet, 1988).

Emprego:

A droga é preconizada por alguns autores como expectorante e emética (BP, 1988; Vigneau, 1985). A variedade vermelha da cila é bastante empregada como raticida (Robbers et al., 1996).

A proscilaridina A é um cardioativo ativo por via oral e de eliminação rápida. O tempo de meia-vida deste fármaco varia de 19 a 209 horas (Bruneton, 1993; Reynolds, 1993).

OUTRAS ESPÉCIES

Outras espécies vegetais contêm heterosídeos cardioativos e foram utilizadas na terapêutica por anos como estimulantes cardíacos e diuréticos. Além disso, na medicina tradicional, apresentaram usos variados, como emético, laxativo, anti-malárico, antiepilético e, topicamente, para picadas de insetos. Muitas delas são mais potentes que as espécies de *Digitalis*, mas não são atualmente empregadas na terapêutica, sendo seu uso popular totalmente desaconselhado em função de sua toxicidade e dificuldade de obtenção de produtos padronizados, com possibilidade de controle da dosagem. Algumas delas estão sendo reavaliadas cientificamente.

ESPIRRADEIRA

Nome científico: *Nerium oleander* L.

Família botânica: Apocynaceae

Nerium oleander L. é um vegetal ornamental originário da região Medi-

terrânea, sendo cultivado em todo o mundo, exceto nas zonas montanhosas ou muito frias (Bruneton, 1993). O nome *Nerium* vem de *neros*, úmido, referindo-se ao local onde a planta cresce (Barroso, 1991). Na França, é conhecida como *laurier-rose* e no Brasil, como espirradeira. A planta secreta um látex amargo e muito tóxico. As folhas contêm 1,5% de cardenolídeos. Foram relatados casos de acidentes tóxicos com crianças e com pessoas que inadvertidamente utilizaram os galhos dessa planta como espeto para assar carne (Hollman, 1985). O constituinte majoritário é a oleandrina ou 3-(α -L-oleandrosil)-16-acetóxi-gitoxigenina derivado da gitoxigenina (Bruneton, 1993; Robbers et al., 1996).

CHAPÉU-DE-NAPOLEÃO

Nome científico: *Thevetia peruviana* (Pers.) K. Schum.

Sinonímia científica: *Thevetia nerifolia* Juss. ex Steud.

Família botânica: Apocynaceae

A tevétia, também conhecida com os nomes vulgares louro-amarelo (Bruneton, 1993), noz-da-sorte, oleandro-amarelo (Duke, 1985) é originária da América tropical e foi introduzida em outras regiões quentes do globo devido a suas características ornamentais. As sementes de *Thevetia* possuem cardenolídeos ativos tevetosídeos e gentiobiosil-tevetosídeos da digitoxigenina (ex: tevetina B), da uzarigenina e da canogenina. As folhas contêm tevetosídeos, C-nor-D-homo-cardenolídeos (Duke, 1985; Bruneton, 1993). Popularmente, o látex da planta era usado como veneno de flechas, assim como o estrofanto, sendo empregado, ainda, como veneno para peixes, inseticida e bactericida (Duke, 1985; Bruneton, 1993).

CONVALÁRIA

Nome científico: *Convallaria majalis* L.

Família botânica: Asphodelaceae

Essa planta é de origem européia, de zonas montanhosas e tem ampla distribuição na Ásia e América setentrional. É conhecida como *lis des vallées* e *muguet*. As raízes e os rizomas contêm mais de 40 compostos ativos, sendo o principal a convalotoxina, um monoglicosídeo composto da genina estrofantidina e ramnose. Outros incluem convalotoxol, convalosídeo e convalotoxosídeo.

HELÉBORO-NEGRO

Nome científico: *Helleborus niger* L.

Família botânica: Ranunculaceae

Também conhecida como rosa-de-natal ou heléboro-negro, essa planta foi utilizada na antiguidade, principalmente para problemas mentais, sendo a causa de muitos acidentes fatais. As partes utilizadas eram constituídas dos rizomas, ricos em cardiotônicos, majoritariamente a heleborina. Outra espécie, pertencen-

te à família Asphodelaceae, e denominada *Veratrum album* L., é conhecida como heléboro-verde e apresenta atividade depressora do músculo cardíaco.

Na família Ranunculaceae, também podem ser citadas espécies do gênero *Adonis*, como *Adonis vernalis* L. e *Adonis aestivalis* L., que são ornamentais, porém violentos venenos cardíacos e digestivos.

10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARONSON, J.K. Positive inotropic drugs and drugs used in dysrhythmias. In: DUKE, M.N.G. (ed.). *Meyler's side effects of drugs*. 12.ed. Amsterdam: Elsevier, 1992. cap 18, p. 385-393.
- BARROSO, G.M. *Sistemática de angiospermas do Brasil*. Viçosa: Universitária, 1991. v.3
- BIGGER, J.T.; Jr, M.D. Digitalis toxicity. *J. Clin. Pharmacol.*, v. 25, n. 10, p. 514-521, 1985.
- BRITISH PHARMACOPOEIA. 14.ed. London: Her Majesty's Stationery Office, 1988.
- BRUNETON, J. *Elementos de fitoquímica y de farmacognosia*. Madrid: Acríbia, 1991.
- BRUNETON, J. *Éléments de phytochimie et de pharmacognosie*. Paris: Lavosier, 1993.
- CANDAUI, L.A. Intoxicação digitalica: diagnóstico e tratamento. *Arq. Bras. Cardiol.*, v. 52, n. 3, p. 163-166, 1989.
- CLAUSEN, T. Clinical and therapeutical significance of the Na⁺, K⁺ pump. *Clinical Science*, v. 95, p. 3-17, 1998.
- COSTA, A.F. *Farmacognosia*. 3.ed. Lisboa: Calouste-Gulbenkian, 1967. v. 2.
- DUKE, J. *Handbook of medicinal herbs*. Boca Raton: CRC, 1985.
- FARMACOPÉIA Brasileira. 3.ed. São Paulo: Andrei, 1977.
- FARMACOPÉIA Brasileira. 2.ed. São Paulo: Siqueira, 1959.
- FRAGA, C.A.M.; BARREIRO, E.J. Cardiotônicos: histórico e perspectivas de uma importante classe de agentes terapêuticos. *Química Nova*, v. 19, n. 2, p. 182-189, 1996.
- FUCHS, F.D.; WANNMACHER, L. *Farmacologia clínica: fundamentos da terapia racional*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1992.
- GAIGNAULT, J.C.; BIDET, D. Hétérosides cardiotoniques. 35 siècles d'histoire. *Fitoterapia*, v. 59, n. 4, p. 259-315, 1988.
- HAUPTMAN, P.J.; KELLY, R.A. Digitalis. *Circulation*, v.99, n.9, p.1265-1270, 1999.
- HEGNAUER, R. Cardenolides and bufadienolides, occurrence and taxonomic significance. *Planta Medica*, v. 19, n. 11, p. 138-153, 1970.
- HOFFMAN, B.F.; BIGGER, J.T. Digital e glicosídeos cardíacos. In: GILMAN, A.G. et al. (ed.). *Goodman e Gilman as bases farmacológicas da terapêutica*. 8.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991. cap. 34, p. 536-552.
- HOLLMAN, A. Plants and cardiac glycosides. *Br. Heart J.*, v. 54, p. 258-261, 1985.
- IKEDA, Y.; FUJII, Y.; UMEMURA, M.; HATAKEYAMA, T.; MORITA, M.; YAMAZAKI, M. Quantitative determination of cardiac glycosides in *Digitalis lanata* Leaves by Reversed-Phase Thin-Layer Chromatography. *J. Chromatogr.*, v. 746, n. 11, p. 225-260, 1996.
- JOHNSON, J.A.; LALONDE, R.L. Congestive heart failure. In: DIPIRO, J.T.; TALBERT, R.L.; HAYES, P.E.; YEE, G.C.; MATZKE, G.R.; POSEY, L.M. (ed.) *Pharmacotherapy. A pathophysiologic approach*. 2.ed. New York: Elsevier, 1992. p. 160-193.

- KELLY, R.A.; SMITH, W.T. Tratamento farmacológico da insuficiência cardíaca. In: GILMAN, A.G. et al. (ed.). *Goodman e Gilman as bases farmacológicas da terapêutica*. 9.ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill Interamericana, 1996. cap. 34, p. 595-615.
- KRENN, L.; KOOP, B.; DEIM, A.; ROBIEN, W.; KUBELKA, W. Zum Bufadienolidmuster der „roten“ Meerzwiebel. *Planta Medica*, v. 60, n. 1, p. 63-69, 1994.
- MANGOLD, J.B.; LANGNER, R.O. In: FOYE, W.O. (ed.). *Principles of medicinal chemistry*. Filadelfia: Lea & Febinger, 1990. p. 359.
- OLIVEIRA, F.; AKISUE, G.; AKISUE, M.K. *Farmacognosia*. São Paulo: Atheneu, 1991.
- PARIS, R.R.; MOYSE, H. *Matière médicale*. Paris: Masson, 1976.
- PHARMACOPEE Française. 9.ed. Paris: Maisonneuve, 1976.
- RIESGO de interacciones con la hierba de San Juan (hipérico). *Buttlei groc*, v.13, n.3, p.9-10, 2000.
- REYNOLDS, J.E.F. (ed.). *Martindale – the extra pharmacopeia*. 29.ed. London: Pharmaceutical, 1989.
- REYNOLDS, J.E.F. (ed.). *Martindale – the extra pharmacopeia*. 30.ed. London: Pharmaceutical, 1993.
- ROBBERS, J.E.; SPEEDIE, M.E.; TYLER, V.E. *Pharmacognosy and pharmacobiotechnology*. 9.ed. rev. Baltimore: Williams & Wilkins, 1996.
- SEBBEN, A. A defesa química dos anfíbios. *Ciência Hoje*, v. 15, n. 87, p. 25-33, 1993.
- THE MERCK INDEX. 22.ed. New Jersey: Merck, 1996.
- THE UNITED STATES PHARMACOPEIA. The National Formulary. 22.ed. Rockville: United States Pharmacopeial Convention, 1990.
- VIGNEAU, C. *Plantes médicinales - thérapeutique-toxicité*. Paris: Masson, 1985.
- VIGNOLA, R.; CANELLA, M. Enzymatic determination of total cardiac glycosides in plant extracts. *Planta Medica*, v. 46, n. 2, p. 127-128, 1982.
- WAGNER, H.; BLADT, S.; ZGAINKI, E.M. *Plant drug analysis – a thin layer chromatography atlas*. Berlin: Springer, 1993.

11. SUGESTÕES PARA LEITURA

- FRAGA, C.A.M.; BARREIRO, E.J. Cardiotônicos: histórico e perspectivas de uma importante classe de agentes terapêuticos. *Química Nova*, v. 19, n. 2, p. 182-189, 1996.
- GAGNAULT, J.C.; BIDET, D. Hétérosides cardiotoniques. 35 siècles d'histoire. *Fitoterapia*, v. 59, n. 4, p. 259-315, 1988.
- HAUPTMAN, P.J.; KELLY, R.A. Digitalis. *Circulation*, v.99, n.9, p.1265-1270, 1999.
- HOLLMAN, A. Plants and cardiac glycosides. *Br Heart J*, v. 54, p. 258-261, 1985.
- KELLY, R.A.; SMITH, W.T. Tratamento farmacológico da insuficiência cardíaca. In: GILMAN, A.G. et al. (ed.) *Goodman e Gilman as bases farmacológicas da terapêutica*. 9.ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill Interamericana, 1996. cap. 34, p. 595-615.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos aos farmacêuticos Roseli Silva e Rodrigo Dall'Agnol e aos acadêmicos do curso de Farmácia-UFRGS, Charley Staats e Gustavo Freire Petrovick, pela colaboração na revisão bibliográfica e apresentação gráfica.

SAPONINAS

AUTORES

Elbir Paulo Schenkel
Grace Gosmann
Margareth Linde Athayde

SUMÁRIO DO CAPÍTULO

1. Introdução
2. Propriedades gerais
3. Terminologia e classificação
4. Características químicas
5. Ocorrência e distribuição
6. Detecção, identificação e obtenção
7. Propriedades biológicas
8. Emprego farmacêutico
9. Drogas vegetais clássicas
10. Reações químicas
11. Saponinas purificadas

1. INTRODUÇÃO

Saponinas são glicosídeos de esteróides ou de terpenos policíclicos. Esse tipo de estrutura, que possui uma parte com característica lipofílica (triterpeno ou esteróide) e outra parte hidrofílica (açúcares), determina a propriedade de redução da tensão superficial da água e suas ações detergente e emulsificante.

As saponinas são substâncias de elevada massa molecular (600 a 2000) e, de modo geral, ocorrem em misturas complexas devido à presença concomitante de estruturas com um número variado de açúcares ou ainda devido à presença de diversas agliconas. A cadeia de açúcares pode ser linear ou ramificada e uma das dificuldades na elucidação estrutural desses compostos está justamente em determinar os carbonos das ligações interglicosídicas. Por essas razões, o isolamento de saponinas, bem como a sua elucidação estrutural, podem ser muito difíceis. É por isso, também, que o conhecimento sobre a química e propriedades biológicas de saponinas desenvolveu-se apenas mais recentemente, paralelo à evolução das técnicas cromatográficas e espectroscópicas.

Apesar dessas dificuldades, ao longo do tempo, esse grupo de substâncias sempre tem sido de interesse farmacêutico, seja como adjuvante em formulações, componentes ativos em drogas vegetais, ou ainda, como matéria-prima para a síntese de esteróides.

2. PROPRIEDADES GERAIS

As saponinas em solução aquosa formam espuma persistente e abundante. Essa atividade provém, como nos outros detergentes, do fato de apresentarem na sua estrutura, como já referido, uma parte lipofílica, denominada aglicona ou sapogenina e uma parte hidrofílica constituída por um ou mais açúcares. A espuma formada é estável à ação de ácidos minerais diluídos, diferenciando-a daquela dos sabões comuns. Essa propriedade é a mais característica desse grupo de compostos, da qual deriva o seu nome (do latim *sapone* = sabão).

Outras propriedades físico-químicas e biológicas encontradas, mas nem sempre presentes em todas as saponinas, são:

- elevada solubilidade em água;
- ação sobre membranas: muitas saponinas são capazes de causar desorganização das membranas das células sanguíneas (ação hemolítica) ou das células das brânquias em peixes (ação ictiotóxica);
- complexação com esteróides: razão pela qual frequentemente apresentam ação antifúngica e hipocolesterolemiantes.

3. TERMINOLOGIA E CLASSIFICAÇÃO

As saponinas podem ser classificadas de acordo com o núcleo fundamental da aglicona ou, ainda, pelo seu caráter ácido, básico ou neutro. Assim, quanto à aglicona, denominam-se saponinas esteroidais e saponinas triterpênicas. No grupo das saponinas esteroidais podem ser considerados também os glicosídeos nitrogenados esteroidais, que são tratados por alguns autores como um grupo à parte. O caráter ácido pode ser devido à presença de um grupamento carboxila na aglicona ou na cadeia de açúcares (por exemplo, ácidos glicurônico e galacturônico), ou ambos. O caráter básico decorre da presença de nitrogênio, em geral sob forma de uma amina secundária ou terciária, como nos glicosídeos nitrogenados esteroidais.

Outra classificação refere-se ao número de cadeias de açúcares ligadas na aglicona. Assim, saponinas monodesmósicas possuem uma cadeia de açúcares, enquanto que saponinas bidesmósicas têm duas cadeias de açúcares, a maioria com ligação éter na hidroxila em C-3 e a outra com ligação éster. Essa diferenciação é importante já que, frequentemente, as saponinas bidesmósicas não apresentam as atividades biológicas relatadas para as saponinas monodesmósicas. As saponinas apresentam um número variável de monossacarídeos ligados entre si em cadeia linear ou como uma cadeia ramificada. Os monossacarídeos encontrados mais comumente são: D-glicose, D-galactose, L-ramnose, L-arabinose, D-xilose, D-fucose e os ácidos glicurônico e galacturônico. As ligações interglicosídicas podem ser α ou β e os monossacarídeos podem ocorrer na forma de piranose ou furanose (figura 1).

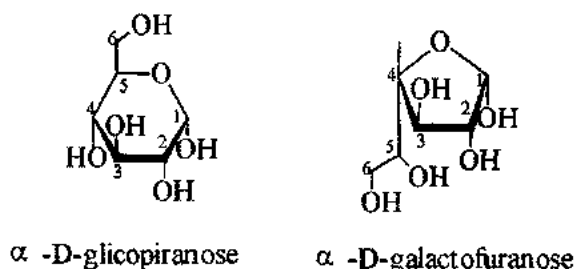


Figura 1. Açúcares nas formas piranose e furanose

4. CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS

A variação estrutural das agliconas pode ser mais facilmente entendida considerando a classificação em saponinas esteroidais e saponinas triterpênicas.

4.1. Saponinas esteroidais neutras

Nas saponinas esteroidais, a aglicona é formada por um esqueleto de 27 carbonos dispostos num sistema tetracíclico. Biogeneticamente, formam-se *via* pirofosfato de isopentenila originando o óxido de esqualeno que cicliza numa conformação cadeira-barco-cadeira-barco formando o cicloartenol (em algas e plantas verdes) ou o lanosterol (em fungos e organismos não fotossintéticos), após vários rearranjos do tipo 1,2. Nessa rota biogenética, o cicloartenol, após clivagem oxidativa de três metilas, forma, entre outros compostos, os esteróides e os cardenólídeos (Abe et al., 1993; Lichtenthaler et al., 1997) (figura 2).

Essas saponinas apresentam duas estruturas básicas comuns: o espirostan (16,22:22,26-diepóxi-colestan) e o furostan (16,22-epóxi-colestan). O espirostan é o cetal de 16,26-di-hidróxi-22-colestanona, enquanto que o hemiacetal correspondente, furostan-22,26-diol é estável apenas quando o grupo hidroxila em C-26 está ligado a um açúcar. Quando esse é cindido, ocorre espontaneamente a cetalização formando o derivado espirostan (figura 3).

As saponinas do tipo espirostan possuem núcleo espirocetal em C-22 e podem ser divididas nas séries 25*R* (metila em posição α ; série *normal*) ou 25*S* (metila em posição β ; série *iso*). As saponinas de núcleo furostan apresentam cadeia lateral com ligação osídica na hidroxila em C-26. São menos frequentes e, por hidrólise, transformam-se em estruturas do tipo espirostan através do fechamento do anel.

Em relação à conformação espacial, a fusão dos anéis A e B pode ser *cis* (H-5 em posição β , como na esmilagenina) ou *trans* (H-5 em posição α , como na digitogenina). Já a fusão dos anéis B/C e C/D é *trans*, enquanto que os anéis D/E têm junção *cis* (figura 3).

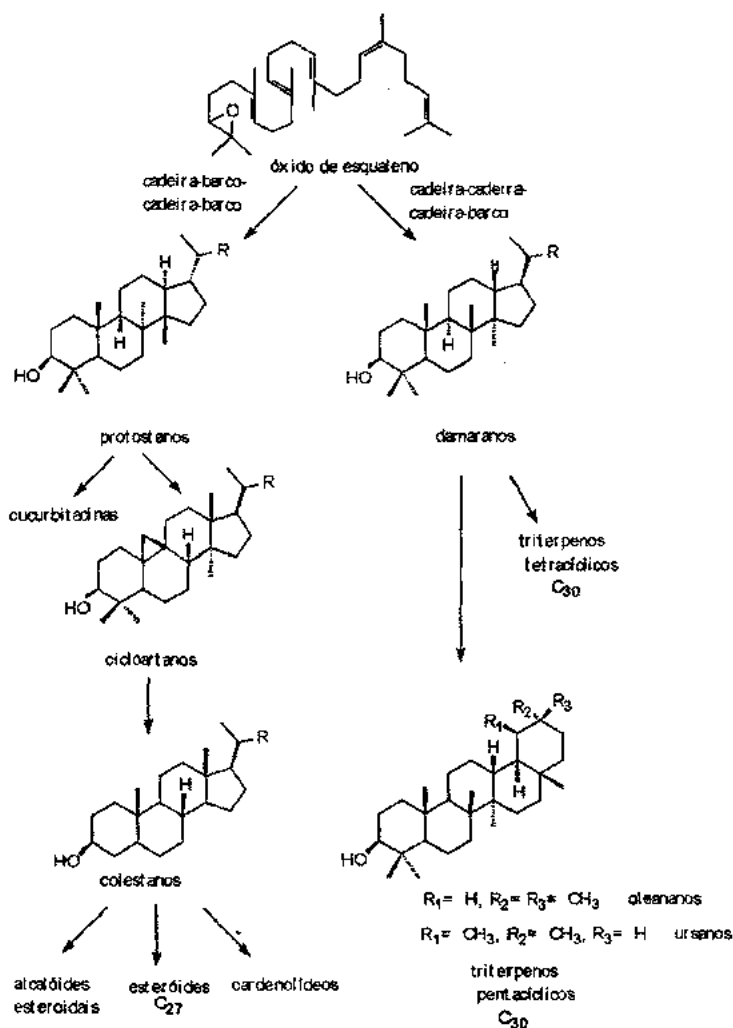


Figura 2. Formação de triterpenos e esteróides em plantas

4.2. Saponinas esteróides básicas

As saponinas de caráter básico pertencem ao grupo dos alcalóides esteróides, que são característicos do gênero *Solanum* (família Solanaceae). Possuem nitrogênio no anel F e são conhecidos dois tipos de estruturas: **espirosolano** (quando o nitrogênio é secundário) e **solanidano** (quando o nitrogênio é terciário).

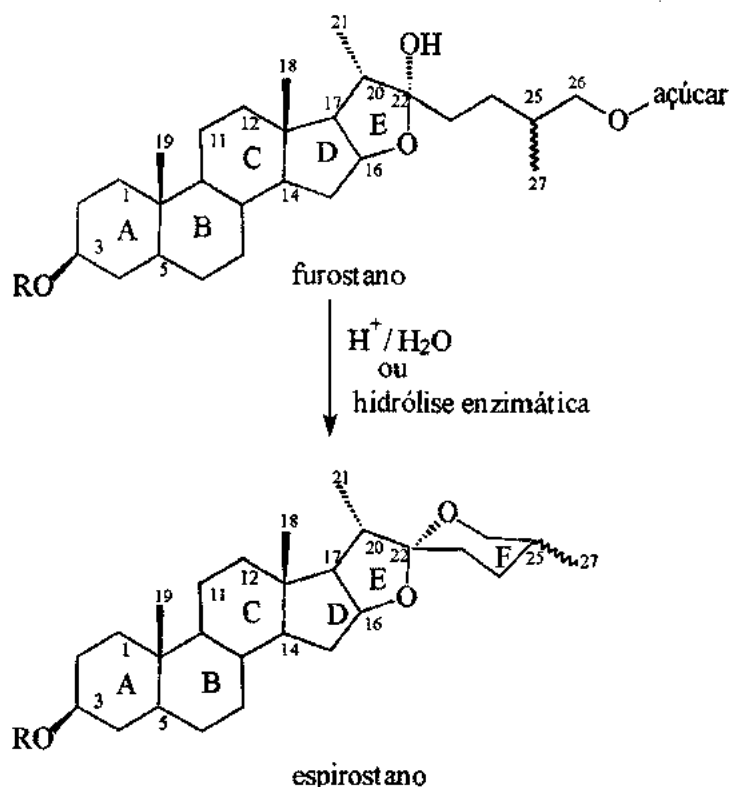


Figura 3. Formação do núcleo espirosolano através de hidrólise

Os compostos com núcleo espirosolano podem existir nas configurações 22*R*,25*R* (exemplo, solasodina encontrada na batata-inglesa) ou 22*S*,25*S* (exemplo, tomatidina encontrada no tomate) (figura 4).

Nos compostos com núcleo solanidano, o nitrogênio pertence aos dois anéis E e F, simultaneamente, sendo também conhecidos como indolizidinas. Os solanidanos têm a configuração 22*R*,25*S*, estando a metila do carbono 25 em posição equatorial (figura 5).

Uma abordagem mais detalhada desse grupo é apresentada no capítulo “Alcalóides esteroidais”.

Diferentes substituintes, geralmente hidroxilas, caracterizam os diversos compostos desses dois grupos de esteróides. As ligações osídicas normalmente ocorrem na hidroxila em C-3 sendo que, naquelas de tipo furostano, também encontram-se açúcares em C-26. Às vezes, há ligação dupla entre os carbonos 5 e 6.

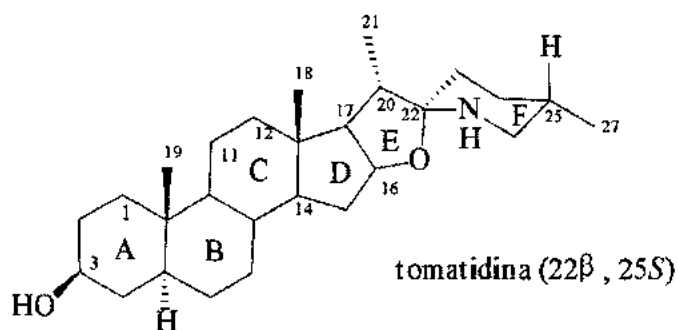
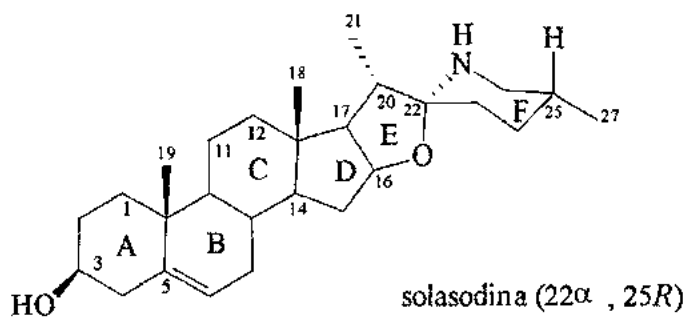


Figura 4. Agliconas do grupo espirosolano

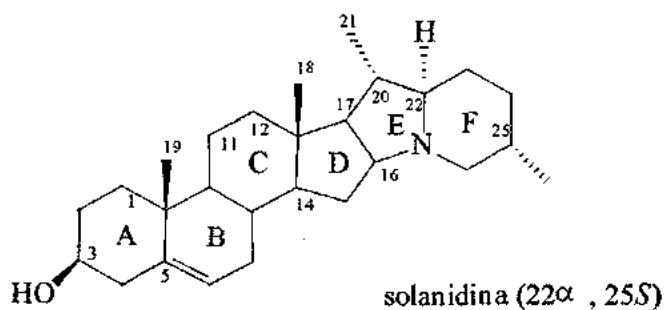
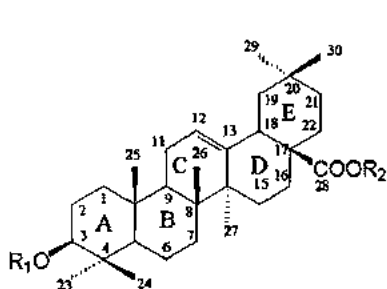


Figura 5. Aglicona de núcleo solanidano

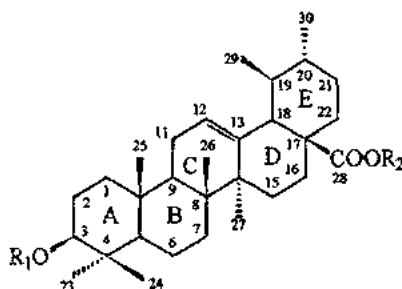
4.3. Saponinas triterpênicas

As saponinas mais freqüentemente encontradas na natureza possuem 30 átomos de carbono e núcleo triterpênico. Esse núcleo tem a mesma origem do esqueleto esteroidal até a formação do óxido de esqualeno. No entanto, este último, ao ciclizar numa conformação cadeira-cadeira-cadeira-barco e, de acordo com dois tipos diferentes de rearranjos, pode originar os triterpenos tetracíclicos e os triterpenos pentacíclicos (Abe et al., 1993) (figura 2).

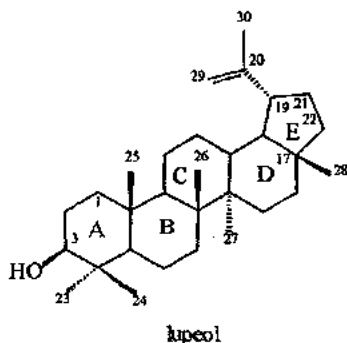
Os triterpenos pentacíclicos podem ser divididos em três grupos principais, segundo seu esqueleto: β -amirina, α -amirina e lupeol. As saponinas do tipo β -amirina (conhecidas também como oleananos) apresentam duas metilas em C-20. Aquelas do tipo α -amirina (ou ursanos) apresentam uma metila em C-20 e outra em C-19. Nessas saponinas, a estereoquímica entre os anéis A/B, B/C e C/D é *trans*, e entre D/E é *cis*. As saponinas do tipo lupeol diferem, daquelas citadas acima, na estereoquímica entre os anéis D/E, que é *trans*. Além disso, o quinto anel (E) possui cinco carbonos, não sendo hexagonal como nas outras saponinas triterpênicas (figura 6).



Estrutura tipo β -amirina:
ácido oleanólico $R_1=R_2=H$



Estrutura tipo α -amirina:
ácido ursólico $R_1=R_2=H$



lupeol

Figura 6. Núcleos mais comuns das saponinas triterpênicas

Substituintes no núcleo básico, tais como hidroxilas, carboxilas e metoxilas, diferenciam os compostos identificados nesse grupo. As ligações osídicas normalmente ocorrem na hidroxila em C-3 (ligação éter) ou na carboxila em C-28 (ligação éster). Quando ocorre ligação dupla esta é, em geral, entre C-12 e C-13, nos grupos de oleananos, de ursanos e do lupeol. Outros tipos de núcleos, mais raramente encontrados incluem: friedelano, taraxastano e hopano.

Dentre as saponinas tetracíclicas incluem-se aquelas com núcleo damarano, encontradas em *Panax ginseng* C.A.Mey. (ver item 9) e de distribuição mais restrita.

5. OCORRÊNCIA E DISTRIBUIÇÃO

As saponinas esteroidais e triterpênicas apresentam uma distribuição diferenciada no reino vegetal.

As saponinas esteroidais neutras são encontradas quase que exclusivamente em monocotiledôneas, principalmente nas famílias Liliaceae, Dioscoreaceae e Agavaceae. Os gêneros *Smilax*, *Dioscorea*, *Agave* e *Yucca* são especialmente ricos nessas saponinas. Em dicotiledôneas, a ocorrência dessas saponinas é bastante rara, tendo sido isoladas na família Scrophulariaceae, mais especificamente nos gêneros *Digitalis* e *Trigonella*.

As saponinas esteroidais básicas ou alcaloídicas são encontradas principalmente no gênero *Solanum*, pertencente a família Solanaceae.

As saponinas triterpênicas encontram-se predominantemente em dicotiledôneas, principalmente nas famílias Sapindaceae, Hippocastanaceae, Sapotaceae, Polygalaceae, Caryophyllaceae, Primulaceae e Araliaceae.

6. DETECÇÃO, IDENTIFICAÇÃO E OBTENÇÃO

6.1. Detecção no vegetal

A detecção de saponinas no vegetal é realizada a partir de suas propriedades químicas e físico-químicas: pela reação com ácidos minerais, aldeídos aromáticos ou sais de metais produzindo compostos corados, pela diminuição da tensão superficial e/ou pela ação hemolítica. Esses testes podem ser realizados qualitativa ou quantitativamente.

O teste de ação superficial é realizado com o extrato aquoso obtido a partir do decocto do vegetal. Após agitação enérgica do extrato filtrado em tubo de ensaio, a formação de espuma, que não desaparece com a adição de um ácido mineral diluído, indica a presença de saponinas.

A ação hemolítica pode ser determinada tanto em tubo de ensaio contendo uma solução tamponada de células sangüíneas, como em placa cromatográfica, após migração dos diferentes extratos vegetais em teste. No primeiro

caso, a presença de solução avermelhada, após centrifugação, caracteriza a liberação de hemoglobina das células. Na cromatografia em camada delgada (CCD), o aparecimento de halos esbranquiçados sobre fundo avermelhado homogêneo caracteriza hemólise. Apesar de outras substâncias presentes nos vegetais também apresentarem ação hemolítica (alguns taninos, por exemplo) ou existirem saponinas que não são hemolíticas, esse teste é bastante útil quando aplicado em conjunto com outros.

O perfil cromatográfico das saponinas, estabelecido através de CCD ou cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), pode ser utilizado como um método de identificação de drogas ou extratos vegetais. Com o mesmo objetivo, mais recentemente, tem sido utilizado o acoplamento de técnicas, como cromatografia líquida e espectrometria de massas.

6.2. Métodos de extração e purificação

Sendo glicosídeos, e portanto, substâncias polares, as saponinas são geralmente solúveis em água e pouco solúveis em solventes apolares. O extrato aquoso apresenta como vantagem, além do custo menor, a ausência de lipídeos e clorofila. No entanto, como desvantagens devem ser consideradas as possibilidades de hidrólise, durante o processo extrativo, ou hidrotermólise, no caso de extração a quente, bem como a baixa estabilidade desses extratos. Por essas razões, de modo geral, são utilizados álcoois, etanol ou metanol, ou misturas hidroalcoólicas para a extração, através de maceração, decocção, percolação ou extração exaustiva sob refluxo. Frequentemente, o extrato hidroalcoólico assim obtido é submetido à purificação, após eliminação do conteúdo alcoólico, através da partição com solvente pouco polar (diclorometano ou clorofórmio) para a retirada de compostos apolares, seguida da partição com *n*-butanol, para a eliminação de açúcares livres, aminoácidos e ácidos orgânicos, entre outras substâncias hidrofílicas que ficam na fase aquosa, obtendo-se uma fração purificada de saponinas na fase butanólica. Tradicionalmente, tem sido também utilizada como técnica de purificação, a precipitação fracionada através da adição do extrato concentrado de saponinas a solventes de menor polaridade, como éter etílico ou acetona, provocando sua precipitação por redução da solubilidade.

Outros métodos de purificação incluem a complexação com colesterol, diálise, cromatografia de troca iônica ou extração seletiva utilizando a formação de sal, quando na presença de saponinas de reação ácida, bem como métodos cromatográficos, utilizando resinas sintéticas (Amberlite®), gel de sílica ou géis de exclusão molecular, tipo Sephadex® (Hostettmann e Marston, 1995).

6.3. Isolamento e análise

De modo geral, as saponinas ocorrem na forma de misturas complexas, com variações quanto ao número de açúcares presente para uma aglicona específica e/ou abrangendo variações quanto às agliconas e aos açúcares presentes, o que torna o seu isolamento um processo bastante trabalhoso. Assim, são utilizados diversos tipos de processos cromatográficos e, em não se obtendo substâncias suficientemente puras para a análise estrutural, são também empregados métodos de derivatização, como acetilação, metilação e benzoilação. As saponinas isoladas são, então, caracterizadas através de hidrólise e análise espectroscópica.

Eventualmente, é utilizada a hidrólise do extrato bruto, que é realizada sem o processo moroso de isolamento dos constituintes individuais, permitindo caracterizar as agliconas e açúcares presentes. Dependendo dos objetivos, essa hidrólise, juntamente com a análise cromatográfica, pode ser suficiente para a caracterização de uma droga ou extrato vegetal. De acordo com o tipo de saponinas presentes, a hidrólise pode ser enzimática, em meio ácido ou alcalino, ou mesmo por hidrotermólise. Para uma abordagem mais detalhada dos processos de hidrólise e possíveis reações de degradação, ver Hostettmann e Marston (1995).

Mais recentemente, a utilização de cromatografia em coluna de imunoafinidade foi relatada para o isolamento do ginsenosídeo Rb-1 do extrato bruto de ginseng (Fukuda et al., 2000) e anticorpos monoclonais anti-ginsenosídeo Rg1 e Rb1 foram utilizados para sua caracterização (Fukuda et al., 2001).

No caso de ser desejada a elucidação estrutural, além da análise da aglicona e dos açúcares, é imprescindível a utilização de métodos espectroscópicos, incluindo a espectrometria de massas, espectroscopia de ressonância magnética nuclear e respectivas técnicas bidimensionais. Para a espectrometria de massas, são requeridos métodos especiais para abranger o âmbito de massas elevadas, comumente presentes em saponinas, e para circundar a dificuldade de volatilização. Os mais utilizados atualmente são bombardeamento rápido de átomos (FAB/MS), dessorção química e dessorção de campo (van Setten et al., 2000; Sahu e Achari, 2001; Huhman e Sumner, 2002).

6.4. Métodos de análise quantitativa

As determinações baseadas nas propriedades clássicas das saponinas (complexação com colesterol, formação de espuma, atividade hemolítica e atividade icotóxica) têm sido substituídas por métodos fotométricos como densitometria, colorimetria de produtos derivatizados, espectroscopia no ultravioleta e, mais recentemente, por cromatografia gasosa e cromatografia líquida de alta eficiência. Métodos espectrofotométricos são bastante sensíveis, porém não são adequados para a quantificação de saponinas em extratos brutos, pois as reações não são es-

pecíficas e outros produtos coloridos podem se formar através da reação com compostos, tais como fitosteróis e flavonóides. A eletroforese capilar têm sido descrita como uma técnica eficiente de separação e quantificação de saponinas; entretanto, necessita de grandes quantidades para a detecção, o que reduz a utilização deste método rotineiramente (Oleszek, 2002). Dentre os problemas mais frequentemente encontrados em trabalhos analíticos envolvendo saponinas estão a extração incompleta do material vegetal e a dificuldade de obtenção de uma fração livre de compostos interferentes para a sua quantificação.

Embora atualmente existam técnicas mais adequadas, as propriedades hemolíticas de determinadas saponinas têm sido utilizadas como um método de detecção e quantificação. Assim, os trabalhos de Potter e Kimmerer (1989) e de Barbosa e colaboradores (1990) realizados com folhas de *Ilex opaca* Sol., relatam o método hemolítico para determinar variações sazonais no conteúdo de saponinas.

Dentre as técnicas analíticas mais frequentemente citadas, encontram-se determinações quantitativas realizadas com o uso combinado de cromatografia em camada delgada e métodos colorimétricos, como a determinação quantitativa de saponinas triterpênicas em *Solidago virgaurea* L. (Bader et al., 1991), *Eleutherococcus senticosus* (Rupr. et Maxim.) Maxim., *Panax ginseng* C.A.Mey. e *Pycnorrhiza kurroo* Royle ex Benth. (Vanhaelen e Vanhaelen-Fastre, 1984), do asiaticosídeo em *Centella asiatica* (L.) Urb. (Gupta et al., 1999), de saponinas em extratos de *Yucca* (Uematsu et al., 2000), e em soja e feijão (Gurfinkel e Rao, 2002).

A cromatografia gasosa têm sido utilizada predominantemente para a separação de agliconas, pois as saponinas, sendo moléculas grandes e de caráter polar, não são compostos voláteis. Um dos fatores limitantes deste método é a hidrólise das saponinas, que pode conduzir à formação de artefatos e mesmo à hidrólise parcial destas substâncias, induzindo a erros na quantificação, sendo o tempo e as condições de hidrólise considerados fatores-chave. A cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC/EM) foi utilizada na determinação de terpenóides na resina de *Pistacia lentiscus* L. var. *Chia* (Papageorgiou et al., 1997). Ver revisão recente em Oleszek, 2002.

No entanto, grande destaque tem sido dado à cromatografia líquida de alta eficiência, devido à rapidez da análise, sensibilidade e adaptabilidade a compostos polares não voláteis. A maior dificuldade, entretanto, quando é utilizada a detecção de saponinas por ultravioleta, é a necessidade de realizá-la em baixos comprimentos de onda (203 a 210 nm), o que conduz a problemas de linha de base instável e interferência dos eluentes na análise. Entretanto, a detecção na região de 203 a 210 nm é possível, com o uso de solventes adequados e com alto grau de pureza ou de gradientes de solventes com baixa absorção nesta região, como acetonitrila ou metanol. Essas dificuldades podem, também, ser contornadas com o uso de outro tipo de detector, como

por índice de refração ou através da derivatização das saponinas, o que permite a detecção em comprimentos de onda mais elevados (254 nm para os derivados 4-bromofenacila, por exemplo). Um grande número de trabalhos têm sido descritos na literatura objetivando a quantificação de saponinas triterpênicas através de CLAE (Soldati et al., 1979; Shimizu et al., 1983; Ireland e Dziedzic, 1985; Slacanin et al., 1988; Vidal-Ollivier et al., 1989; Kensil et al., 1991). Dentre eles, destaca-se o trabalho de Slacanin et al. (1988), no qual foram quantificadas as saponinas de núcleo oleanano de *Phytolacca dodecandra* L'Hér., uma planta com potencial atividade molusquicida. As saponinas monodesmosídicas foram determinadas em 254 nm, na forma de derivados 4-bromofenacila, enquanto que as bidesmosídicas (não derivatizadas) foram determinadas em 206 nm. Ainda nesse trabalho, a avaliação da eficiência de diferentes métodos de extração é abordada, envolvendo variações de solvente extrator, temperatura e tempo de extração.

A utilização de cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas por ionização foi relatada para a determinação de saponinas dos frutos de *Phytolacca dodecandra* (Perret et al., 1999), e para a diferenciação e caracterização de ginsenosídeos em espécies de *Panax* (Wang et al., 1999).

Dessa forma, as vantagens do uso da CLAE sobre outros métodos de quantificação existentes parecem ser bastante apreciáveis, pois essa técnica cromatográfica possibilita a determinação individual de saponinas em mistura, delineando a possibilidade da detecção de adulterantes. Uma revisão mais detalhada sobre o assunto é encontrada em Hostettmann e Marston (1995) e em Oleszek, 2002.

7. PROPRIEDADES BIOLÓGICAS

O comportamento anfifílico das saponinas e a capacidade de formar complexos com esteróides, proteínas e fosfolípidos de membranas determinam um número variado de propriedades biológicas para essas substâncias, destacando-se a ação sobre membranas celulares, alterando a sua permeabilidade, ou causando sua destruição. Relacionadas com essa ação sobre membranas, estão as atividades hemolítica, icotóxica e molusquicida, frequentemente observadas. Para algumas saponinas também foi relatada ação espermicida; o mecanismo proposto até agora para essa ação seria a ruptura da membrana plasmática da célula do espermatozóide. Atividade anti-helmíntica foi apontada para um número significativo de saponinas; no entanto, a irritação causada nas mucosas tem impedido o desenvolvimento de aplicações práticas (Jentsch et al., 1961).

A complexação com colesterol, propriedade também frequentemente observada, originou um número significativo de trabalhos objetivando avaliar o uso de saponinas na dieta com o objetivo de reduzir os níveis de colesterol sérico. Um dos primeiros trabalhos data de 1971, demonstrando a redu-

ção de colesterol no sangue e tecidos pela adição de saponinas à dieta de frangos (Cheeke, 1971). Posteriormente, foi relatada a redução de lipídeos e colesterol no fígado de camundongos através de dieta contendo saponinas da alfafa, *Medicago sativa* L. (Reshef et al., 1976). Também para extratos de ginseng (*Panax ginseng* C.A.Mey.) foi demonstrada, em coelhos, a redução das concentrações de colesterol e triglicerídeos (Moon et al., 1984). Efeitos semelhantes foram descritos também para as saponinas de *Calendula officinalis* L. (calêndula) e *Beta vulgaris* L. (beterraba) (Lutomski, 1983).

O mecanismo da ação hipocolesterolemizante poderia ser explicado através do aumento da excreção do colesterol, por formação de complexo com as saponinas administradas por via oral, ou, ainda, através do aumento da eliminação fecal de ácidos biliares, conduzindo a uma maior utilização do colesterol para a síntese dessas substâncias. Uma proposta de mecanismo um pouco mais recente leva em consideração também as propriedades irritantes das saponinas. Com a formação de complexos entre as saponinas e o colesterol das membranas das células da mucosa intestinal, ocorreria uma esfoliação, com perda de função e redução da área de absorção (Johnson et al., 1986; Cheeke, 1996). Mais recentemente, foi demonstrado *in vitro* para as saponinas de *Ilex paraguariensis* A.St.-Hil. (erva-mate) a inibição da difusão passiva de ácido cólico através de membrana de celulose. O experimento visou a simular a reabsorção intestinal dos ácidos biliares; com a diminuição da absorção desses ácidos e aumento da sua eliminação, parte do colesterol da corrente sanguínea seria desviado para suprir sua carência na bile (Ferreira et al., 1997).

A atividade antiinflamatória dessa classe de substâncias é conhecida há longo tempo para as saponinas de *Aesculus hippocastanum* L. (castanheira-da-índia, cuja mistura de saponinas é conhecida como escina) e *Glycyrrhiza glabra* L. (alcaçuz, cuja saponina principal é a glicirrizina) (ver item 9). Mais recentemente, essa ação foi descrita em modelos animais também para as saponinas de *Akebia quinata* (Houtt.) Decne., *Bupleurum chinense* DC., *Bupleurum falcatum* L., *Eryngium planum* L., *Hedera helix* L., *Hydrocotyle vulgaris* L., *Patrinia scabiosaefolia* Fisch. ex Link, *Panax ginseng* C.A.Mey., *Polemonium caeruleum* L., *Tetrapanax papyriferum* (Hook.) K.Koch, *Thea sinensis* L. (= *Camellia sinensis* (L.) Kuntze), *Sanicula europaea* L., entre outras espécies. Revisões mais recentes podem ser encontradas em: Hiller, 1987; Mahato et al., 1988; Hostettmann e Marston, 1995; Liu, 1995; Safayhi e Sailer, 1997.

A atividade antiviral de saponinas tem sido investigada intensamente na última década, destacando-se as atividades verificadas para substâncias isoladas de *Glycyrrhiza glabra* L. (ver item 9), *Gymnema sylvestre* (Retz.) R. Br. ex Schult., *Anagallis arvensis* L., *Calendula arvensis* L., *Bupleurum falcatum* L., *Guettarda platypoda* DC., entre outras. Para uma revisão, pode-se consultar Amoros et al., 1988; Hudson, 1990; De Tommasi et al., 1991; Kashiwada et al., 1998; Simões et al., 1999.

Revisões mais recentes sobre a atividade biológica das saponinas podem ser encontradas em: Hostettmann e Marston, 1995; Liu, 1995; Lacaille-Dubois e Wagner, 1996; Safayhi e Sailer, 1997; Mahato e Garai, 1998.

É de se ressaltar que muitas das propriedades apontadas anteriormente foram detectadas em testes *in vitro* ou em modelos animais, sendo indispensável para propiciar o desenvolvimento de aplicações terapêuticas, na maioria dos casos, a avaliação de aspectos farmacocinéticos relativos à absorção, metabolização, eliminação (em muitos ensaios, a avaliação preliminar foi realizada por via i.p.!), ensaios pré-clínicos quanto à toxicidade, bem como ensaios clínicos em todas suas fases (ver capítulo "Farmacologia e toxicologia de produtos naturais"), já que, na maioria dos casos, nem mesmo aqueles ensaios de fase I para determinação da dose em humanos foram desenvolvidos.

8. EMPREGO FARMACÊUTICO

As saponinas são componentes importantes para a ação de muitas drogas vegetais, destacando-se aquelas tradicionalmente utilizadas como expectorantes e diuréticas. Exemplos de drogas de uso tradicional são *Polygala senega* L. (polígala), *Primula veris* L. (prímula), *Grindelia robusta* Nutt. (grindélia) e *Hedera helix* L. (hera) como expectorantes e *Smilax* spp. (salsapari-lha), *Herniaria glabra* L., *Betula pendula* Roth e *Equisetum arvense* L. como diuréticas. No entanto, os mecanismos dessas atividades não estão completamente elucidados. Alguns autores argumentam que a irritação no trato respiratório aumentaria o volume do fluido respiratório, hidratando a secreção brônquica. O muco teria, então, sua viscosidade diminuída. Outra possibilidade seria devida à atividade superficial das saponinas, também originando menor viscosidade e maior facilidade de expulsão do muco. Já a atividade diurética seria devida à irritação do epitélio renal causada pelas saponinas, ou ainda devida aos flavonóides, geralmente também presentes nessas drogas, ou mesmo pela presença de teores elevados de potássio.

Outros empregos farmacêuticos destacados são como adjuvantes para aumentar a absorção de outros medicamentos através do aumento da solubilidade ou interferência nos mecanismos de absorção e, como adjuvante para aumentar a resposta imunológica (ver item 9, quilaia). Para uma revisão sobre este assunto ver Lacaille-Dubois, 1999.

Como substâncias isoladas, são poucas as saponinas utilizadas, destacando-se a glicirrizina e o seu derivado hemi-succinato sódico do ácido glicirrético, conhecido como carbenoxolona, além do asiaticosídeo, obtido de *Centella asiatica* (L.) Urb. Mais recentemente, como fármaco investigacional tem se destacado a utilização da saponina isolada de *Quillaja saponaria* Molina, QS-21, como adjuvante imunológico (ver item 9).

9. DROGAS VEGETAIS CLÁSSICAS

ALCAÇUZ

Nome científico: *Glycyrrhiza glabra* L.

Família botânica: Fabaceae

Parte utilizada: raízes e rizomas

Monografias farmacopéicas: F. Bras. III, Ph. Eur. II

O termo gliciriza é de origem grega e significa raiz doce. O alcaçuz já era utilizado pelos gregos como edulcorante em bebidas, como expectorante e para o tratamento de úlceras. É uma das plantas mais comumente usadas nas prescrições chinesas tradicionais (Shibata, 1977), utilizada no tratamento de doenças alérgicas, distúrbios inflamatórios e úlceras gástricas. Porém o alcaçuz produz efeitos do tipo mineralocorticoide, causando retenção de sódio e perda de potássio, o que leva ao desenvolvimento de efeitos adversos como aumento da pressão sangüínea. Preparações desglicirizinadas normalmente não têm sido associadas a esses efeitos.

Dados químicos:

As saponinas triterpênicas são consideradas os principais componentes, apresentando teor variável, de acordo com a variedade e procedência, entre 2 a 15% (Hartke e Mutschler, 1988). A saponina predominante é a glicirizina (=ácido glicirizíco) (figura 7). A Farmacopéia Alemã, na sua 10^a edição, apresenta monografia para o extrato fluido padronizado de alcaçuz, com teor mínimo de 2,0% e máximo de 4,0% de glicirizina (DAB 1998). Essa saponina apresenta sabor cerca de 50 vezes maior que a sacarose. Ao sofrer hidrólise, o heterosídeo fornece uma aglicona, o ácido glicirético (ou glicirretínico) que não possui sabor doce, mais duas moléculas de ácido D-glicurônico. O ácido glicirético (ácido 3β-hidróxi-11-oxo-olean-12-eno-29-óico) é um triterpeno pentacíclico do tipo β-amirina, caracterizado pela presença de uma cetona α,β insaturada no anel C. O ácido glicirético existe comercialmente nas formas estereoisômeras 18α-(configuração *trans* entre os anéis D/E) e 18β-(configuração *cis* entre os anéis D/E) devido à sua isomerização durante a hidrólise da glicirizina.

A droga vegetal é caracterizada, ainda, pela presença de glicosídeos de flavanonas, flavonóis e isoflavonas, destacando-se o teor elevado da flavanona liquiritina e da chalcona isoliquiritigenina, esta última determinando a coloração amarela da droga.

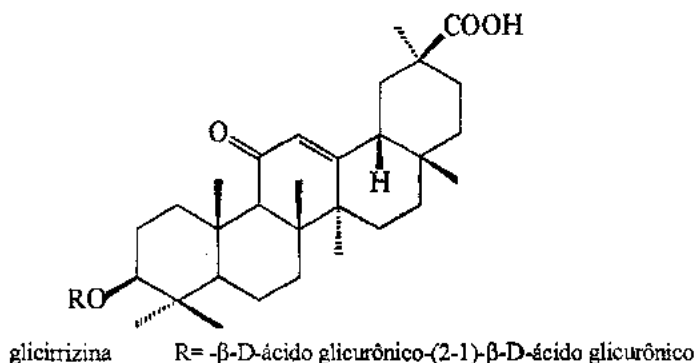


Figura 7. Estrutura da glicirrizina

Dados farmacológicos:

A principal atividade investigada é a ação antiinflamatória, a qual é atribuída à inibição da enzima 11β-hidróxi-esterol-desidrogenase, responsável pela inativação do cortisol (conversão do cortisol à cortisona). A ausência congênita dessa enzima resulta na ação do cortisol como um potente mineralocorticoide (pseudoaldosteronismo). A inibição dessa enzima determina um aumento nos níveis de cortisol nos rins e em outros tecidos mineralocorticoides seletivos. Já que o cortisol, que ocorre em quantidades maiores do que a aldosterona, se liga com a mesma afinidade da aldosterona aos receptores mineralocorticoides, o resultado é um efeito hipermineralocorticoide do cortisol.

Outra atividade investigada é o efeito na cicatrização de úlceras: na década de 1950, estudos com compostos derivados da glicirrizina revelaram que o efeito antiúlcera era devido à inibição das enzimas 15-hidróxi-prostaglandina-desidrogenase e Δ13-prostaglandina-redutase. A enzima 15-hidróxi-prostaglandina-desidrogenase converte as prostaglandinas E₂ e F₂α em 15-ceto-prostaglandinas, que são inativas. Dessa forma, esses compostos têm o efeito de aumentar a concentração local de prostaglandinas que promovem a secreção de muco e a proliferação celular no estômago, levando à cicatrização das úlceras (Baker, 1994).

O alcaçuz é uma das plantas sobre a qual maior número de estudos farmacológicos têm sido realizados, incluindo estudos em seres humanos, de farmacocinética e ensaios clínicos. Yamamura e colaboradores (1992) analisaram o perfil farmacocinético da glicirrizina em humanos, encontrando pequena quantidade da mesma na urina após a administração de uma dose terapêutica, o que sugere que a glicirrizina é parcialmente absorvida intacta pelo trato gastrointestinal. Por outro lado, o metabólito da glicirrizina, o ácido glicirrético, foi encontrado no plasma após a administração oral de glicirrizina. Os efeitos dos componentes do extrato aquoso das raízes na farmacocinética da gli-

cirrizina e do ácido glicirrético foram investigados em ratos e em humanos com o objetivo de definir o papel da farmacocinética na toxicidade da glicirrizina. Nesses estudos, níveis plasmáticos significativamente menores de glicirrizina e de ácido glicirrético foram encontrados em ratos e em humanos tratados com o extrato aquoso quando comparados com aqueles obtidos quando a glicirrizina foi administrada sozinha. Os dados obtidos com amostras de urina estão de acordo com os citados acima, confirmando a biodisponibilidade reduzida da glicirrizina presente no extrato aquoso em comparação com a glicirrizina pura. Isso deve ser atribuído a interações entre a glicirrizina e os diversos componentes do extrato aquoso durante a absorção intestinal. Essa modificação na biodisponibilidade poderia explicar os vários efeitos adversos resultantes da administração oral crônica de glicirrizina pura em oposição à administração do extrato aquoso (Cantelli-Forti, 1994; Raggi, 1994).

Entre as outras atividades em investigação destacam-se a atividade antiviral, incluindo a ação sobre o vírus HIV e citomegalovírus humano (Ito, 1987; Hattori, 1990) e atividade indutora de interferon (Acharya et al., 1993).

Emprego farmacêutico:

Adicionalmente ao seu uso como adoçante em confeitaria e produtos alimentares como chocolates, cervejas, licores, gomas de mascar, e mesmo na indústria do tabaco, extratos de alcaçuz são empregados como edulcorante em preparações farmacêuticas. Embora utilizado em outros países em produtos com indicações relacionadas às atividades antiinflamatória e antiúlcera, no Brasil as especialidades farmacêuticas presentes atualmente no comércio são produtos preconizados como expectorante. Como precauções de uso, pessoas com problemas cardíacos e hipertensão devem evitar o consumo excessivo de preparações contendo alcaçuz.

É de se destacar a comercialização no Brasil da espécie *Periandra mediterranea* (Vell.) Taub. (= *P. dulcis* Mart. ex Benth.), da mesma família, denominada alcaçuz brasileiro, que de fato nada tem a ver com o alcaçuz em termos de composição química e atividades comprovadas, mas apresenta também teor elevado de saponinas e sabor doce (Suttisri et al., 1993).

GINSENG

Nome científico: *Panax ginseng* C.A.Mey.

Família botânica: Araliaceae

Parte utilizada: rizomas e raízes dessecadas

Monografias farmacopéicas: ÖAB 1990, Chinesa 1990, Ph. Franç. X, DAB 10., Ph. Jap. 12., 1991 e Ph. Helv. VI

O ginseng, originário da Manchúria e Coréia do Norte, é utilizado na China há mais de 3000 anos como uma planta estimulante, reconstituente, geradora de vitalidade, conhecido como elixir da longa vida. A palavra "panax" significa panacéia.

As raízes secas, das quais a periderme é retirada, são chamadas de "ginseng-branco", enquanto que o "ginseng-vermelho" é obtido através da exposição das raízes ao vapor de água, com posterior secagem, sem retirada da periderme. Esse procedimento altera a cor do produto para marrom-avermelhado. Uma característica importante é o aspecto antropomórfico dessas raízes, do qual deriva o nome ginseng, que, em chinês, significa imagem do homem.

Dados químicos:

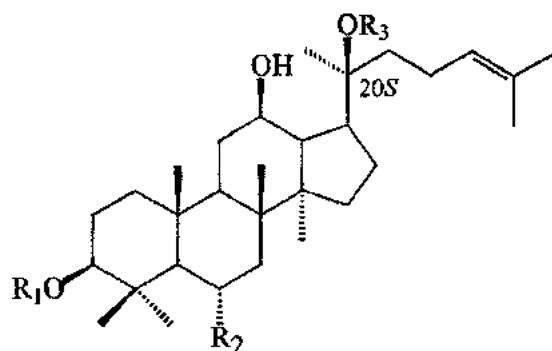
Muitos compostos foram isolados das partes subterrâneas do ginseng, principalmente saponinas triterpênicas tetracíclicas e pentacíclicas, cujo teor nas raízes pode variar de 0,5 a 3%. A maioria pertence ao grupo damarano (protopanaxadiol e protopanaxatriol), enquanto que a saponina triterpênica pentacíclica é do grupo do ácido oleanólico. A denominação ginsenosídeo seguida de letras foi dada por pesquisadores japoneses de acordo com os valores de R_f em um determinado sistema cromatográfico (ex.: ginsenosídeos Ro, Ra, Rb₁, Rb₂...), o que é determinado pelo número de cadeias osídicas e pelo número de açúcares presentes em cada molécula (figura 8). Já os panaxosídeos, designados desse modo pelos pesquisadores russos, foram denominados por letras (A, B, C...). Alguns ginsenosídeos e panaxosídeos possuem a mesma estrutura (ginsenosídeo Rg-1 = panaxosídeo A). O ginsenosídeo Ro possui como aglicona o ácido oleanólico, enquanto que as demais saponinas pertencem aos grupos do protopanaxadiol e protopanaxatriol, que são muito instáveis, sofrendo ciclização da cadeia lateral após hidrólise ácida. A estereoquímica do protopanaxadiol e do protopanaxatriol no carbono 20 foi estabelecida, sendo que as 20S-sapogeninas são rapidamente epimerizadas ao isômero 20R, formando um mistura de equilíbrio na qual a forma R é predominante (Shibata, 1977). Até o momento foram descritas 28 saponinas das raízes, pedúnculos, folhas, flores e botões de flores da planta. Há pequenas diferenças quanto à composição química entre o ginseng-branco e o vermelho, com exceção para o ginsenosídeo Ra que no ginseng-branco é da ordem de 20%, enquanto que no ginseng-vermelho apresenta-se em torno de 3% (Hostettmann e Marston, 1995). Além dos ginsenosídeos, polissacarídeos e flavonóides, aminoácidos e vitaminas foram isolados em diferentes partes da planta.

Dados farmacológicos:

Com base em suas propriedades farmacológicas, os extratos de ginseng têm sido classificados como uma nova classe de compostos conhecidos como adaptógenos ou agentes antiestresse. O termo adaptógeno foi sugerido em 1947 para descrever a ação de fármacos que aumentam a resistência não-específica do organismo às influências externas, como as infecções e o estresse (Raman e Houghton, 1995). Os ginsenosídeos são considerados os responsáveis pela maioria das atividades farmacológicas do ginseng. Contudo, o mecanismo de ação do ginseng não está esclarecido.

Emprego farmacêutico:

No mercado brasileiro estão presentes dezenas de especialidades farmacêuticas com indicação para aumentar a resistência natural do organismo ao



protopanaxadiol
protopanaxatriol
ginsenosídeo Rb₁

$R_1=R_2=R_3=H$
 $R_1=R_3=H$ $R_2=OH$
 $R_1=-\beta\text{-D-glicose-(2-1)-}\beta\text{-D-glicose}$
 $R_2=H$
 $R_3=-\beta\text{-D-glicose-(6-1)-}\beta\text{-D-glicose}$

Figura 8. Núcleos fundamentais das saponinas triterpênicas do ginseng (damarano)

estresse e infecções e para reduzir a fadiga. Usualmente, são utilizados 200 a 600 mg de extrato de ginseng (padronizado em 1,5% de ginsenosídeos expressos como ginsenosídeo Rg1), diariamente, durante 3 meses no máximo. As reações adversas incluem efeitos cardiovasculares (hipertensão, edema), no sistema nervoso central (tontura, insônia, nervosismo, euforia, dificuldade de concentração), ação sobre sistema endócrino (mastalgia), sobre sistema genitourinário (hemorragia vaginal e ação estrogênica), diarreia matinal e erupções cutâneas. A síndrome de abuso do ginseng pode ser detectada pelos sintomas: insônia, nervosismo, euforia, diarreia matinal e erupções cutâneas. Como contra-indicações são consideradas: gravidez e lactação, diabetes, hipertensão; interações são relacionadas com fármacos hormonais, estimulantes, hipoglicemiantes e anticoagulantes (Hammond e Whitworth, 1981; Baldwin et al., 1986; Chong e Oberholzer, 1988; Schulz e Haensel, 1996; Wong et al., 1998, e literatura citada).

Outras plantas relacionadas:

O nome ginseng pode se referir a pelo menos 22 espécies de plantas. O ginseng da Coreia é considerada a espécie típica; no entanto, outras espécies são utilizadas, como: *Panax quinquefolium* L., cultivado na América do Norte, e conhecido como ginseng-americano; *P. notoginseng* (Burkill) F.H.Chen ex C.H.Chow é cultivado na China; *P. japonicus* C.A.Mey. (= *P. pseudoginseng* Wall. ssp. *japonicus* (C.A.Mey.) H. Hara), ocorre no Japão

e no sul da China, é conhecido como ginseng-do-japão. Existem ainda diversas subespécies e variedades de *P. japonicum* C.A.Mey. e de *P. zingiberensis* C.Y.Wu et K.M.Feng que ocorrem na China. Assim, quanto à composição química existem dois grupos de *Panax*: aquelas espécies que apresentam principalmente saponinas do tipo damarano- *P. ginseng* C.A.Mey., *P. quinquefolium* L. e *P. trifolium* L. (encontrado na América do Norte) e um segundo grupo que inclui as espécies *P. japonicum* e *P. zingiberensis* possuindo majoritariamente saponinas derivadas do ácido oleanólico juntamente com aquelas derivadas do damarano. Devido ao alto valor comercial dessas espécies, muitas vezes são encontradas adulterações. A substituição por *Eleutherococcus senticosus* (Rupr. et Maxim.) Maxim. (Araliaceae) é bastante frequente (Shibata, 1977; Liu e Xiao, 1992; Hostettmann e Marston, 1995).

No Brasil, é comum a substituição principalmente por *Pfaffia paniculata* (Mart.) Kuntze e *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen (família Amaranthaceae), conhecidas como fáfia ou ginseng-brasileiro. O gênero *Pfaffia* possui 27 espécies distribuídas no Brasil (Vasconcellos, 1982, Taniguchi et al., 1997) sendo que a diferenciação das espécies não é simples. A diferenciação botânica somente é possível através da planta inteira e florida, pois os caracteres anatômicos das partes subterrâneas entre essas espécies são muito semelhantes. Porém, são encontradas algumas diferenças interespecíficas na composição química que podem definir perfis farmacológicos e toxicológicos distintos, além de auxiliar na diferenciação das espécies. Assim, em *Pfaffia glomerata* é relatada a presença de ácido famérico, ácido glomérico, ácido oleanólico, ecdisterona, rubrosterona, β -D-glicopiranosil-oleanolato, e em *Pfaffia paniculata* é relatada a presença de ácido fáfico, alantoína, estigmasterol, fafosídeos A, B, C, D, E, F, e sitosterol (Nakai et al., 1984; Nishimoto et al., 1984, 1988; Shiobara et al., 1993ab; Takemoto et al., 1983; Rates e Gosmann, 2001).

As saponinas do gênero *Pfaffia* não estão ainda caracterizadas do ponto de vista da atividade biológica. Para *P. paniculata* está relatada potencial atividade antitumoral de três saponinas nortriterpenóides (Nishimoto et al., 1984); e em relação aos extratos brutos ou semipurificados foi detectada reação alérgica (asma ocupacional) em trabalhadores envolvidos com o processamento da raiz (Subiza et al., 1991). Para *P. glomerata*, recentemente foi observado ação depressora do sistema nervoso central de um extrato hidroalcoólico de suas partes subterrâneas via i.p. (De Paris et al., 1998, 2000).

CALÊNDULA

Nome científico: *Calendula officinalis* L.

Família botânica: Asteraceae

Parte utilizada: flores

Monografias farmacopéicas: Ph. Franç. X

É uma planta herbácea, originária do Mediterrâneo, da qual são utilizadas as flores. Na França, as indicações oficialmente aceitas, com base no uso tradicional, são em afecções dermatológicas como antipruriginoso e para proteção da pele. Extratos das flores são utilizados em numerosas preparações de uso externo, como antiinflamatório e cicatrizante, notadamente em cosmetologia, fazendo parte da composição de preparações indicadas para o tratamento de eritemas solares, queimaduras e dermatoses secas.

Dados químicos:

Os componentes principais são flavonóides e saponinas (Vidal-Ollivier et al., 1989). As saponinas foram isoladas das raízes, folhas e flores, alcançando nestas últimas cerca de 6%. Suas estruturas foram elucidadas como sendo mono e bidesmosídeos do ácido oleanólico com os açúcares glicose, galactose e ácido glicurônico (Akihisa et al., 1996). Também foi descrita a presença, nas flores, de álcoois triterpênicos (2-5%), na forma livre ou esterificados com ácidos graxos; carotenóides (1,5%), responsáveis pela coloração das flores; flavonóides (0,2-0,9%), livres ou como glicosídeos de quercetina e isorramnetina; cumarinas; ácidos fenolcarboxílicos (0,1%), inclusive ácido salicílico; óleo volátil (0,2% nas flores secas); polissacarídeos (10% de pectina e 15% de polissacarídeos solúveis) e alantoina (até 0,7%) (Issac, 1992).

Dados farmacológicos:

Para os extratos das flores foram relatadas ações bactericida, fungistática, virucida e tricomonicida (testes *in vitro*, principalmente); essas ações parecem estar relacionadas com a presença dos flavonóides e das saponinas. Em modelos animais, foi relatada ação cicatrizante, com aumento da atividade fagocitária. Tal atividade é atribuída por alguns autores aos carotenóides, e por outros, às saponinas e aos flavonóides. Também foi descrita atividade imunoestimulante, atribuída principalmente às frações de polissacarídeos (Issac, 1992). Suas principais saponinas (glicosídeos A, B, C, D e F) apresentaram ação hipoglicemiante e gastroprotetiva em ratos pela via oral (Yoshikawa et al., 2001).

CENTELA

Nome científico: *Centella asiatica* (L.) Urb.

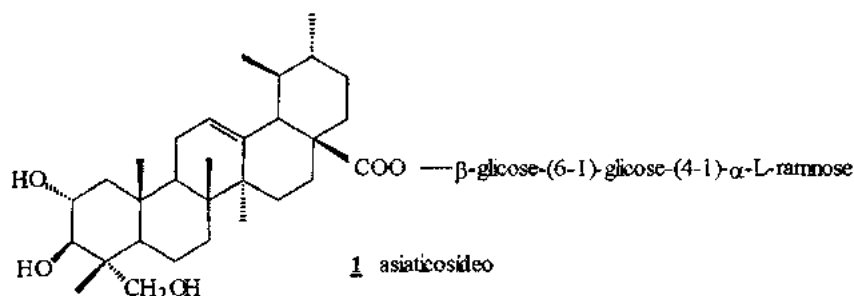
Sinonímia científica: *Hydrocotyle asiatica* L.

Família botânica: Apiaceae

Parte utilizada: raiz

Monografias farmacopéicas: Chinesa 1990, F. Bras. IV

Popularmente conhecida como centelha, centela, centela-da-ásia, pata-de-mula, pata-de-burro ou pé-de-cavalo, é uma espécie cosmopolita, de uso tradicional no tratamento de feridas e lesões cutâneas diversas. No Brasil, ocorre nos Estados de Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná, Santa Ca-



tarina e Rio Grande do Sul, sendo encontrada em quase todos os ambientes e obtida por extrativismo ou por importação. Como é amplamente comercializada, a sua adulteração é bastante frequente com espécies de *Hydrocotyle* (Fischer et al., 1995).

Dados químicos:

As propriedades farmacológicas são atribuídas às saponinas e triterpenos, destacando-se como componente principal o asiaticosídeo 1. Em alguns países, a mistura do asiaticosídeo com triterpenos de estrutura similar (ácido madecásico, ácido asiático e ácido madasiático) está no mercado em preparações de uso tópico e interno, incluindo o Brasil (Madecassol®). Em 1992, o ácido asiático e o asiaticosídeo foram isolados das raízes de *Schefflera octophylla* (Lour.) Harms, sendo esta a primeira vez que estes componentes foram isolados de outra planta que não em *Centella asiatica* (L.) Urb. (Sung et al., 1992).

Emprego farmacêutico:

Atualmente, vem sendo utilizada em preparações magistrais e em cosméticos, preconizada como cicatrizante, em queimaduras e quelóides e para o tratamento de insuficiência venosa crônica, com base na ação benéfica verificada sobre o metabolismo do tecido conectivo das paredes vasculares e na microcirculação (Arpaia et al., 1990; Cesarone et al., 1994). Têm sido relatados casos de dermatite de contato em cremes e preparações contendo esses compostos (Danese et al., 1994; Bilbao et al., 1995; Gonzalo-Garijo et al., 1996).

QUILAIA

Nome científico: *Quillaja saponaria* Molina

Família botânica: Rosaceae

Parte utilizada: cascas

Monografias farmacopéicas: ÖAB 1990, BP 1993, Ph. Franc. X e Ph.

Helv. VI

É uma árvore encontrada no Chile, Peru e Bolívia. O nome é derivado da palavra chilena *quilleán*, que significa "para lavar", pois suas cascas produzem espuma abundante quando agitadas na água. As saponinas atualmente

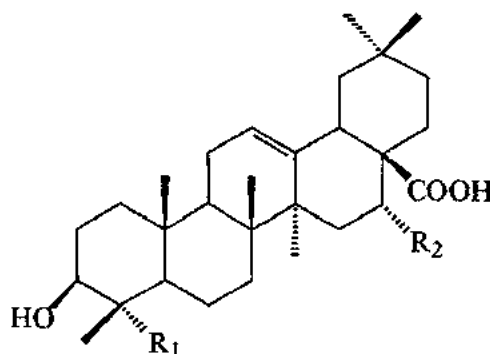
industrializadas provêm das raízes de diferentes espécies européias do gênero *Gypsophylla* ou das cascas do tronco de *Quillaja saponaria* Mol., sendo esta última utilizada como estabilizante de suspensões na indústria farmacêutica e como agente espumante na indústria alimentícia. As saponinas de *Quillaja saponaria* destacam-se por apresentarem pronunciada atividade imunoadjuvante, sendo empregadas como adjuvantes na produção de vacinas (van Setten e van de Werken, 1996; Kensil et al., 1996; San Martín e Briones, 1999).

Dados químicos:

As saponinas são consideradas como principais responsáveis pelas atividades biológicas. Trata-se de uma mistura complexa, de difícil separação e elucidação, devido à presença de um número elevado de açúcares (6 a 10) e de um resíduo de ácido graxo, o que as diferenciam marcadamente das saponinas de outras plantas. As principais agliconas são o ácido quiláico **2**, a gipsogenina **3** e o ácido gipsogênico **4**, o ácido equinocístico e o ácido fitolacagênico. De modo geral, são saponinas bidesmosídicas, caracterizadas ainda pela presença de um grupo aldeído em C-23. A partir das cascas de *Quillaja saponaria* já foram isoladas e elucidadas mais de 50 saponinas (Higuchi et al., 1988; van Setten e van de Werken, 1996; Guo et al., 1998; Guo e Kenne, 2000; Nord e Kenne, 2000; Nyberg et al., 2000, e literatura citada).

Dados farmacológicos:

Além do interesse decorrente do emprego industrial destacam-se alguns resultados recentes de pesquisas *in vitro* e *in vivo* com saponinas de *Quillaja saponaria* Mol.. Assim, foram relatadas ações: hipocolesterêmica (Sidhu e Oakenfull, 1986), imunopotenciadora para vacinas anti-rábicas orais



2	$R_1 = \text{CHO}$	$R_2 = \text{OH}$	ácido quiláico
3	$R_1 = \text{CHO}$	$R_2 = \text{H}$	gipsogenina
4	$R_1 = \text{COOH}$	$R_2 = \text{H}$	ácido gipsogênico

(Mahara et al., 1986), imunoestimuladora pelas vias oral e intradérmica (Chavali e Campbell, 1987; Kensil et al., 1991; Ronnberg et al., 1995), imunomoduladora *in vitro* (Chavali et al., 1987), adjuvante em vacinas antiparasitárias, para malária, leishmaniose e tripanossomíase (Bomford, 1988; Giorgio, 1990; Santos et al., 1999; Moreno et al., 2000), estimuladora da absorção de antibióticos e peptídeos por via nasal e ocular em ratos (Pillion et al., 1996). Misturas destas saponinas, também, são empregadas como adjuvantes em vacinas contra vírus e bactérias, entre outros, contra herpes simples-2, HIV-1, sarampo e tuberculose (Stittelaar et al., 2000; Evans et al., 2001; Fonseca et al., 2001; Mohamedi et al., 2001). Recentemente, uma nova estratégia para vacinação através das vias sub-cutânea, oral e nasal foi desenvolvida através da combinação de uma proteína da toxina do cólera com complexos imunoestimulantes (ISCOMS) contendo a mistura de saponinas Quil-A® (Mowat et al., 2001).

10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABE, I.; ROHMER, M.; PRESTWICH, G.D. Enzymatic cyclization of squalene and oxidosqualene to sterols and triterpenes. *Chem. Rev.*, v. 93, p. 2189-2206, 1993.
- ACHARYA, S.K.; DASARATHY, S.; TANDON, A.; JOSHI, Y.K.; TANDON, B.N. A preliminary open trial on interferon stimulator (SNMC) derived from *Glycyrrhiza glabra* in the treatment of subacute hepatic failure. *Indian J. Med. Res.*, v. 98, p. 69-74, 1993.
- AMOROS, M.; FAUCONNIER, B.; GIRRE, R.L. Effect of saponins from *Anagallis arvensis* on experimental herpes simplex keratitis in rabbits. *Planta Med.*, v. 54, p. 128-131, 1988.
- AKIHISA, T.; YASUKAWA, K.; OINUMA, H.; KASAHARA, Y.; YAMA NOUCHI, S.; TAKIDO, M.; KUMAKI, K.; TAMURA, T. Triterpenealcohols from the flowers of Compositae and their anti-inflammatory effects. *Phytochemistry*, v. 43, p. 1255-1260, 1996.
- ARPAIA, M.R.; FERRONE, R.; AMITRANO, M.; NAPPO, C.; DEL-GUERCIO, R. Effects of *Centella asiatica* extract on mucopolysaccharide metabolism in subjects with varicose veins. *Int. J. Clin. Pharmacol. Res.*, v. 10, p. 229-233, 1990.
- BADER, G.; GRIMM, A.; HILLER, K. Quantitative determination of triterpenoid saponins in *Solidago virgaurea*. *Planta Med.*, v. 57, Supplement 2, 1991.
- BAKER, M.E. Licorice and enzymes other than 11- β -hidroxiesteroide desidrogenase: an evolutionary perspective. *Steroids*, v. 59, p. 136-141, 1994.
- BALDWIN, C.A.; ANDERSON, L.A.; PHILLIPSON, J.D. What pharmacists should know about ginseng. *Pharm. J.*, v. 237, p. 583-586, 1986.
- BARBOSA, P.; GROSS, P.; PROVAN, G.J.; STERMITZ, F.R. Allelo chemicals in foliage of unfavored tree hosts of the Gypsy Moth, *Lymantria dispar* L. 2. Seasonal variation of saponins in *Ilex opaca* and identification of saponins aglycones. *J. Chem. Ecol.*, v. 16, p. 1931-1937, 1990.
- BILBAO, I.; AGUIRRE, A.; ZABALA, R.; GONZALEZ, R.; RATON, J.; DIAZ-PE-REZ, J.L. Allergic contact dermatitis from butoxyethyl nicotinic acid and *Centella asiatica* extract. *Contact Dermatitis*, v. 33, p. 435-436, 1995.

- BOMFORD, R. Immunomodulators from plants and fungi. *Phytotherapy Res.*, v. 2, p. 159-164, 1988.
- CAINELLI GEBARA, V.C.B.; PETRICEVICH, V.L.; RAW, I.; SILVA, W.D. da. Effect of saponin from *Quillaja saponaria* Molina on antibody, tumour necrosis factor and interferon- γ production. *Biotechnol. Appl. Biochem.*, v. 21, p. 31-37, 1995.
- CANTELLI-FORTI, G.; MAFFEI, F.; HRELIA, P.; BUGAMELLI, F.; BERNARDI, M.; D'INTINO, P.; MARANESI, M.; RAGGI, M.A. Interaction of licorice on glycyrrhizin pharmacokinetics. *Environ. Health Perspect.*, v. 102, supl. 9, p. 65-68, 1994.
- CESARONE, M.R.; LAURORA, G.; DE SANCTIS, M.T.; INCANDELA, L.; GRIMALDI, R.; MARELLI, C.; BELCARO, G. The microcirculatory activity of *Centella asiatica* in venous insufficiency. A double-blind study. *Minerva Cardio-angiol.*, v. 42, p. 299-304, 1994.
- CHAVALI, S.R.; CAMPBELL, J.B. Adjuvant effects of orally administered saponins on humoral and cellular immune responses in mice. *Immunobiology*, v. 174, p. 347-359, 1987.
- CHAVALI, S.R.; FRANCIS, T.; CAMPBELL, J.B. An in vitro study of immunomodulatory effects of some saponins. *Int. J. Immunopharmacol.*, v. 9, p. 675-683, 1987.
- CHEEKE, P.R. Nutritional and physiological properties of saponins: a review. *Can. J. Anim. Sci.*, v. 51, p. 621, 1971.
- CHEEKE, P.R. Biological effects of feed and forage saponins and their impacts on animal production. In: WALLER, G. R.; YAMASAKI, K. (ed.). *Saponins used in Food and Agriculture*. New York: Plenum, 1996. p. 47-56.
- CHONG, S.; OBERHOLZER, V. Ginseng- is there a use in clinical medicine? *Postgrad. Med. J.*, v. 64, p. 841-846, 1988.
- DANESE, P.; CARNEVALI, C.; BERTAZZONI, M.G. Allergic contact dermatitis due to *Centella asiatica* extract. *Contact Dermatitis*, v. 31, p. 201, 1994.
- DE PARIS, F.; QUEVEDO, J.; SALGUEIRO, J.; RATES, S.M.K.; IZQUIERDO, I. Potencial atividade depressora do extrato de *Pfaffia glomerata* sobre o sistema nervoso central. *Revista de Medicina ATM* 1998, v. 18, p. 12-17, 1998.
- DE PARIS, F.; SALGUEIRO, J.B.; QUEVEDO, J.; IZQUIERDO, I.; RATES, S.M.K. Psychopharmacological screening of *Pfaffia glomerata* Spreng (Amaranthaceae) in rodents. *J. Ethnopharmacol.*, v. 73, p. 261-269, 2000.
- De TOMMASI, N.; CONTI, C.; STEIN, M.L.; PIZZA, C. Structure and in vitro antiviral activity of triterpenoid saponins from *Calendula arvensis*. *Planta Med.*, v. 57, p. 250-253, 1991.
- DEUTSCHES ARZNEIBUCH. 1998. Stuttgart: Govi-Pharmazeutischer, 1998.
- EVANS, T.G.; McELRATH, M.J.; MATTHEWS, T.; MAONTEFIORI, D.; WEINHOLD, K.; WOLFF, M.; KEEFER, M.C.; KALLAS, E.G.; COREY, L.; GORSE, G.F.; BELSHE, R.; GRAHAM, B.S.; SPEARMAN, P.W.; SCHWARTZ, D.; MULLIGAN, M.J.; GOEPFERT, P.; FAST, P.; BERMAN, P.; POWELL, M.; FRANCIS, D. NIAID AIDS VACCINE EVALUATION GROUP. QS-21 promotes an adjuvant effect allowing for reduced antigen dose during HIV-1 envelope subunit immunization in humans. *Vaccine*, v. 19, p. 2080-2091, 2001.
- FERREIRA, F.; VÁSQUEZ, A.; GÜNTNER, C.; MOYNA, P. Inhibition of the passive diffusion of cholic acid by the *Ilex paraguariensis* St. Hil. saponins. *Phytotherapy Res.*, v. 11, p. 79-81, 1997.

- FISCHER, D.C.H.; KATO, E.T.M.; SCHLEIER, R. Estudo farmacobotânico de *Centella asiatica* (L.) Urban (Umbelliferae). *Rev. Farm. Bioquím. Univ. S. Paulo*, v. 31, p. 43-48, 1995.
- FONSECA, D.P.A.J.; FRERICH, J.; SINGH, M.; SNIPPE, H.; VERHEUL, A.F.M. Induction of antibody and T-cell responses by immunization with ISCOMS containing the 38-kilodalton protein of *Mycobacterium tuberculosis*. *Vaccine*, v. 19, p. 122-131, 2001.
- FUKUDA, N.; TANAKA, H.; SHOYAMA, Y. Isolation of the pharmacologically active saponin ginsenoside Rb1 from ginseng by immunoaffinity column chromatography. *J. Nat. Prod.*, v. 63, p. 283-285, 2000.
- FUKUDA, N.; TANAKA, H.; SHOYAMA, Y. Double staining of ginsenosides by western blotting using anti-ginsenoside Rb1 and Rg1 monoclonal antibodies. *Biol. Pharm. Bull.*, v. 24, p. 1157-1160, 2001.
- GIORGIO, S. Vacinas contra parasitas. *Ciência Hoje*, v. 11, p. 8, 1990.
- GONZALO-GARJO, M.A.; REVENGA-ARRANZ, F.; BOBADILHA-GONZALEZ, P. Allergic contact dermatitis due to *Centella asiatica*: a new case. *Allergol. Immunopathol. Madr.*, v. 24, p. 132-134, 1996.
- GUO, S.; KENNE, L.; LUNDGREN, L.N.; RÖNNBERG, B.; SUNDQUIST, B.G. Triterpenoid saponins from *Quillaja saponaria*. *Phytochemistry*, v. 48, p. 175-180, 1998.
- GUO, S.; KENNE, L. Structural studies of triterpenoid saponins with new acyl components from *Quillaja saponaria* Molina. *Phytochemistry*, v. 55, p. 419-428, 2000.
- GUPTA, A.P.; GUPTA, M.M.; KUMAR, S. High performance thin layer chromatography of asiaticoside in *Centella asiatica*. *J. Indian Chem. Soc.*, v. 76, p. 321-322, 1999.
- GURFINKEL, D.M.; RAO, A.V. Determination of saponins in legumes by direct densitometry. *J. Agr. Food Chem.*, v. 50, p. 426-430, 2002.
- HAMMOND, T.; WHITWORTH, J. Adverse reactions to ginseng. *Med. J. Aust.*, v. 1, p. 492, 1981.
- HARTKE, K.; MUTSCHLER, E. *Deutsches Arzneibuch, 9 - Kommentar*. Stuttgart: Govi, 1988.
- HATTORI, T. et al. Preliminary evidence for inhibitory effect of glycyrrhizin on HIV replication in patients with HIV-1 infection. *Tohoku J. Exp. Med.*, v. 162, p. 183-193, 1990.
- HOSTETTMANN, K.; MARSTON, A. *Saponins-chemistry and pharmacology of natural products*. Cambridge: University, 1995.
- HUDSON, J. B. *Antiviral compounds from plants*. Boca Raton: CRC, 1990.
- HUHMANN, D.V.; SUMNER, L.W. Metabolic profiling of saponins in *Medicago sativa* and *Medicago truncatula* using HPLC coupled to an electrospray ion-trap mass spectrometer. *Phytochemistry*, v. 59, p. 347-360, 2002.
- IRELAND, P.A.; DZIEDZIC, S.Z. Analysis of soybean saponins by high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr.*, v. 325, p. 275-281, 1985.
- ISSAC, O. *Die Ringelblume*. Stuttgart: Wissenschaftliche, 1992.
- ITO, M. et al. Mechanism of inhibitory effect of glycyrrhizin on replication of human immunodeficiency virus (HIV). *Antiviral Res.*, v. 10, p. 289-298, 1988.
- JENTSCH, K.; SPIEGL, P.; FUCHS, L. Vergleichende Untersuchung der anthelminthischen Wirksamkeit von Saponinen *in vitro*. *Arzneimittelforsch.*, v. 11, p. 413-414, 1961.

- JOHNSON, I.T.; GEE, J.M.; PRICE, K.; CURL, C.; FENWICK, G.R. Influence of saponins on gut permeability and active nutrient transport *in vitro*. *J. Nutr.*, v. 116, p. 2270, 1986.
- KENSIL, C.R.; PATEL, U.; LENNICK, M.; MARCIANI, D. Separation and characterization of saponins with adjuvant activity from *Quillaja saponaria* Molina cortex. *J. Immunology*, v. 146, p. 431-437, 1991.
- KENSIL, C.R.; SOLTYSIK, S.; WHELLER, D.A.; WU, J.-Y. Structure/Function Studies on QS-21, a Unique Immunological Adjuvant from *Quillaja saponaria*. In: WALLER, G.R.; YAMASAKI, K. (ed.). *Saponins used in traditional and modern medicin*. New York: Plenum, 1996. p.165-172.
- KASHIWADA, Y.; WANG, H.-K.; NAGAO, T.; KITANAKA, S.; YASUDA, I.; FUJIOKA, T.; YAMAGISHI, T.; COSENTINO, L.M.; KOZUKA, M.; OKABE, H.; IKESHIRO, Y.; HU, C.-Q.; YEH, E.; LEE, K.-H. Anti-aids agents. 30. Anti-HIV activity of oleanolic acid, pomolic acid, and structurally related triterpenoids. *J. Nat. Prod.*, v. 61, p. 1090-1095, 1998.
- LACAILLE-DUBOIS, M.-A.; WAGNER, H. A review of the biological and pharmacological activities of saponins. *Phytomedicine*, v. 2, p. 363-386, 1996.
- LACAILLE-DUBOIS, M.-A. Saponins as immunoadjuvants and immunostimulants. In: WAGNER, H. (ed.). *Immunomodulatory agents from plants*. Basel: Birkhäuser, 1999. p. 243-272.
- LICHTENTHALER, H.K.; ROHMER, M.; SCHWENDER, J. Two independent biochemical pathways for isopentenyl diphosphate and isoprenoid biosynthesis in higher plants. *Physiol. Plant*, v. 101, p. 643-652, 1997.
- LIU, J. Pharmacology of oleanolic acid and ursolic acid. *J. Ethnopharmacol.*, v. 49, p. 57-68, 1995.
- LIU, C.; XIAO, P. Recent advances on ginseng research in China. *J. Ethnopharmacol.*, v. 36, p. 27-38, 1992.
- LUTOMSKI, J. Neues über die biologischen Eigenschaften einiger Triterpensaponinen. *Pharmazie in unserer Zeit*, v. 12, p. 149-153, 1983.
- MAHARA, I.; FROH, K.J.; CAMPBELL, J.B. Immune responses of mice to inactivated rabies vaccine administered orally: potentiation by *Quillaja* saponin. *Can. J. Microbiol.*, v. 32, p. 414-420, 1986.
- MAHATO, S.B.; GARAI, S. Triterpenoid saponins. In: HERZ, W.; KIRBY, G.W.; MOORE, R.E.; STEGLICH, W.; TAMM, Ch. (eds.) *Progress in the chemistry of organic natural products*. Wien: Springer, 1998. v. 74.
- MOHAMED, S.A.; HEATH, A.W.; JENNINGS, R. A comparison of oral and parenteral routes for therapeutic vaccination with HSV-2 ISCOMS in mice; cytokine profiles, antibody responses and protection. *Antiviral Res.*, v. 49, p. 83-99, 2001.
- MOON, C.K.; KANG, N.Y.; YUN, Y.P.; LEE, S.H.; LEE, H.A.; KANG, T.L. Effect of red ginseng crude saponin on plasma lipid levels in rats fed on a diet high in cholesterol and triglyceride. *Arch. Pharmacol. Res.*, v. 7, p. 41-45, 1984.
- MORENO, C.A.; RODRIGUEZ, R.; OLIVEIRA, G.A.; FERREIRA, V.; NUSSEN-ZWEIG, R.S.; CASTRO, Z.R.M.; CALVO-CALLE, J.M.; NARDIN, E. Preclinical evaluation of a synthetic *Plasmodium falciparum* MAP malaria vaccine in *Aotus* monkeys and mice. *Vaccine*, v.18, p. 89-99, 2000.
- MOWAT, A.M.I.; DONACHIE, A. M.; JAGEWALL, S.; SCHON, K.; LOWENADLER, B.; DALSGAARD, K.; KAASTRUP, P.; LYCKE, N. CTA1-DD-Immune stimulating complexes: a novel, rationally designed combined mucosal vaccine

- adjuvant effective with nanogram doses of antigen. *J Immunol.*, v. 167, p. 3398-3405, 2001.
- NAKAI, S.; TAKAGI, N.; MIICHI, H.; HAYASHI, S.; NISHIMOTO, N.; TAKEMOTO, T.; KIZU, H. Pfaffosides, nortriterpenoid saponins, from *Pfaffia paniculata*. *Phytochemistry*, v. 23, p. 1703-1705, 1984.
- NISHIMOTO, N.; NAKAI, S.; TAKAGI, N.; HAYASHI, S.; TAKEMOTO, T.; ODASHIMA, S.; KIZU, H.; WADA, Y. Pfaffosides and Nortriterpenoid Saponins from *Pfaffia paniculata*. *Phytochemistry*, v. 23, p. 139-142, 1984.
- NISHIMOTO, N.; SHIOBABA, Y.; INOUE, S.-S.; FUJINO, M.; TAKEMOTO, T.; YEOH, C.L.; OLIVEIRA, F. de; AKISUE, G.; AKISUE, M. K.; HASHIMOTO, G. Three ecdysteroid glycosides from *Pfaffia iresinoides*. *Phytochemistry*, v. 27, p. 1665-1668, 1988, e literatura citada.
- NORD, L.I.; KENNE, L. Novel acetylated triterpenoid saponins in a chromatographic fraction from *Quillaja saponaria* Molina. *Carbohydr. Res.*, v. 329, p. 817-829, 2000.
- NYBERG, N.T.; KENNE, L.; RÖNNBERG, B.; SUNDQUIST, B.G. Separation and structural analysis of some saponins from *Quillaja saponaria* Molina. *Carbohydr. Res.*, v. 323, p. 87-97, 2000.
- OLESEK, W.A. Chromatographic determination of plant saponins. *J. Chromatogr.*, A, v. 967, p. 147-162, 2002.
- PAPAGEORGIOU, V.P.; BAKOLA-CHRISTIANOPOULOU, M.N.; APAZIDOU, K.K.; SARROS, E.E. Gas chromatographic-mass spectroscopic analysis of the acidic triterpenic fraction of mastic gum. *J. Chromatogr.*, A, v. 769, p. 263-273, 1997.
- PERRET, C.; WOLFENDER, J.L.; HOSTETTMANN, K. LC/ES-MS analysis of triterpene glycosides: rapid estimation of the saponin content of dried berries of *Phytolacca dodecandra*. *Phytochem. Anal.* angnp1033, v. 10, p. 272-278, 1999.
- PILLION, D.J.; AMSDEN, J.A.; KENSIL, C.R.; RECCHIA, J. Structure-function relationship among *Quillaja* saponins serving as excipients for nasal and ocular delivery of insulin. *J. Pharm. Sci.*, v. 85, p. 518-524, 1996.
- POTTER, D.A.; KIMMERER, T.W. Inhibition of herbivory on young holly leaves: evidence for the defensive role of saponins. *Oecologia*, v. 78, p. 322-329, 1989.
- RAGGI, M.A.; MAFFEI, F.; BUGAMELLI, F.; CANTELLI-FORTI, G. Bioavailability of glycyrrhizin and licorice extract in rat and human plasma as detected by a HPLC method. *Pharmazie*, v. 49, p. 269-272, 1994.
- RAMAN, A.; HOUGHTON, P. Herbal products- ginseng. *Pharmacol. J.*, v. 255, p. 150-152, 1995.
- RATES, S.M.K.; GOSMANN, G. *Pfaffia*: ginseng nacional? *Revista AFARGS* (Porto Alegre), n. 10, 2001 (Encarte).
- RESHEF, G.; GESTETNER, B.; BIRK, Y.; BONDI, A. Effect of alfafa saponins on the growth and some aspects of lipid metabolism of mice and quails. *J. Sci. Food Agric.*, v. 27, p. 63-72, 1976.
- RONNBERG, B.; FEKADU, M.; MOREIN, B. Adjuvant activity of non-toxic *Quillaja saponaria* Molina components for use in ISCOM matrix. *Vaccine*, v. 13, p. 1375-1382, 1995.
- SAFAYHI, H.; SAILER, E.-R. Anti-inflammatory actions of pentacyclic triterpenes. *Planta Med.*, v. 63, p. 487-493, 1997.
- SAHU, N.P.; ACHARI, B. Advances in structural determination of saponins and terpenoid glycosides. *Curr. Org. Chem.*, v. 5, p. 315-334, 2001.

- SAN MARTÍN, R.; BRIONES, R. Industrial uses and sustainable supply of *Quillaja saponaria* (Rosaceae) saponins. *Econ. Bot.*, v. 53, 302-311, 1999.
- SANTOS, W.R.; DE SOUZA, E.P.; PALATNIK, M.; DE SOUSA, C.B.P. Vaccination of swiss albino mice against experimental visceral leishmaniasis with the FML antigen of *Leishmania donovani*. *Vaccine*, v. 17, p. 2554-2561, 1999.
- SCHULZ, V.; HAENSEL, R. *Rationale Phytotherapie*. 3.ed. Berlin: Springer, 1996. p. 302-305.
- SHIBATA, S. Saponins with biological and pharmacological activity. In: WAGNER, H.; WOLFF, P. (ed.). *New natural products and plants drugs with pharmacological, biological or therapeutical activity*. Berlin: Springer, 1977.
- SHIMIZU, K.; AMAGAYA, S.; OGIHARA, Y. Separation and quantitative analysis of saikosaponins by high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr.*, v. 268, p. 85-91, 1983.
- SHIOBABA, Y.; INOUE, S.-S.; KATO, K.; NISHIGUCHI, Y.; OISHI, Y.; NISHIMOTO, N.; OLIVEIRA, F. de; AKISUE, G.; AKISUE, M. K.; HASHIMOTO, G. A nortriterpenoid, triterpenoids and ecdysteroids from *Pfaffia glomerata*. *Phytochemistry*, vol. 32, p. 1527-1530, 1993a.
- SHIOBABA, Y.; INOUE, S.-S.; KATO, K.; NISHIGUCHI, Y.; NISHIMOTO, N.; OLIVEIRA, F. de; AKISUE, G.; AKISUE, M. K.; HASHIMOTO, G. Pfaffane-type nortriterpenoids from *Pfaffia pulverulenta*. *Phytochemistry*, v. 33, p. 897-899, 1993b, e literatura citada.
- SIDHU, G.S.; OAKENFULL, D.G. A mechanism for the hypocholesterolemic activity of saponins. *Br. J. Nutr.*, v. 55, p. 643-649, 1986.
- SIMÕES, C. M. O.; AMOROS, M.; GIRRE, L. Mechanism of antiviral activity of triterpenoid saponins. *Phytotherapy Res.*, v. 13, p. 1-6, 1999.
- SLACANIN, I.; MARSTON, A.; HOSTETTMANN, K. High-performance liquid chromatographic determination of molluscicidal saponins from *Phytolacca dodonaea* (Phytolaccaceae). *J. Chromatogr.*, v. 448, p. 265-274, 1988.
- SOLDATI, F.; STICHER, O. HPLC Separation and quantitative determination of ginsenosides from *Panax ginseng*, *Panax quinquefolium* and from ginseng drugs preparations. *Planta Med.*, v. 36, p. 30-42, 1979.
- STITTELAAR, K.J.; BOES, J.; KERSTEN, G.F.A.; SPIEKSTRA, A.; MULDER, P.G.H.; VRIES, P.; ROHOLL, P.J.M.; DALSGAARD, K.; DOBBELSTEEN, G.V.D.; ALPHEN, L.V.; OSTERHAUS, A.D.M.E. In vivo antibody response and in vitro CTL activation induced by selected measles vaccine candidates, prepared with purified Quil A components. *Vaccine*, v. 18, p. 2482-2493, 2000.
- SUBIZA, J.; SUBIZA, J.L.; ESCRIBANO, P. M. HINOJOSA, M.; GARCIA, R. JEREZ, M.; SUBIZA, E. Occupational asthma caused by Brazil ginseng dust. *J. Allergy Clin. Immunol.*, v. 88, p. 731-736, 1991.
- SUNG, T.V.; LAVALD, C.; PORZEL, A.; STEGLICH, W.; ADAM, G. Triterpenoids and their glycosides from the bark of *Schefflera octophylla*. *Phytochemistry*, v. 31, p. 227-231, 1992.
- SUTTISRI, R.; CHUNG, M.-S.; KINGHORN, A.D.; STICHER, O.; HASHIMOTO, Y. Periandrin V, a further sweet triterpene glycoside from *Periandra dulcis*. *Phytochemistry*, v. 34, p. 405-408, 1993.
- TANIGUCHI, S.F.; BERSANI-AMADO, C.A.; SUDO, L.S.; ASSEF, S.M.C.; OGA, S. Effect of *Pfaffia iresinoides* on the experimental inflammatory process in rats. *Phytotherapy Res.*, v. 11, p. 568-571, 1997.

- TAKEMOTO, T.; NISHIMOTO, N.; NAKAI, S.; TAKAGI, N.; HAYASHI, S.; ODASHIMA, S.; WADA, Y. Pfaffic acid, a novel nortriterpene from *Pfaffia paniculata* Kuntze. *Tetrahedron Lett.*, v. 24, p. 1057-1060, 1983.
- UEMATSU, Y.; HIRATA, K.; SAITO, K. Spectrophotometric determination of saponin in *Yucca* extract used as food additive. *J. AOAC Int.*, v. 83, p. 1451-1454, 2000.
- VANHAELEN, M.; VANHAELEN-FASTRÉ, R. Quantitative determination of biologically active constituents in crude extracts of medicinal plants by thin-layer chromatography-densitometry II: *Eleutherococcus senticosus* Maxim., *Panax ginseng* Meyer and *Picrorrhiza kurroa* Royle. *J. Chromatogr.*, v. 312, p. 497-503, 1984.
- VAN SETTEN, D.C.; VAN DE WERKEN, G. Molecular structures of saponins from *Quillaja saponaria* Molina. In: WALLER, G.R.; YAMASAKI, K. (ed.). *Saponins used in traditional and modern medicine*. New York: Plenum, 1996. p.185-193.
- VAN SETTEN, D.C.; ZOMER, G.; VAN DE WERKEN, G.; WIERTZ, E.J.H.J.; LE-EFLANG, B.R.; KAMERLING, J.P. Ion trap multiple-stage tandem mass spectrometry as a pre-NMR tool in the structure elucidation of saponins. *Phytochem. Anal.*, v. 11, p. 190-198, 2000.
- VASCONCELOS, J.M.O. Estudo taxonômico sobre Amaranthaceae no RS, Brasil. Dissertação (Mestrado em Botânica) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1982.
- VIDAL-OLLIVIER, E.; BABADJAMIAN, A.; MAILLARD, C.; ELIAS, R.; BALANSARD, G. Identification et dosage par chromatographie liquide haute performance de six saponosides dans les fleurs de *Calendula officinalis* L. *Pharm. Acta Helv.*, v. 64, p. 156-158, 1989.
- WANG, X.M.; SAKUMA, T.; ASAFU-ADJAYE, E.; SHIU, G.K. Determination of ginsenosides in plant extracts from *Panax ginseng* and *Panax quinquefolius* L. by LC/MS/MS. *Anal. Chem.*, v. 71, p. 1579-1584, 1999.
- WONG, A.H.C.; SMITH, M.; BOON, H.S. Herbal Remedies in Psychiatric Practice. *Arch. Gen. Psychiatry.*, v. 55, p. 1033-1044, 1998.
- YAMAMURA, Y.; KAWAKAMI, J.; SANTA, T.; KOTAKI, H.; UCHINO, K.; SAWADA, Y.; TANAKA, N.; IGA, T. Pharmacokinetic profile of glycyrrhizin in healthy-volunteers by a new high-performance liquid-chromatographic method. *J. Pharm. Sci.*, v. 81, p. 1042-1046, 1992.
- YOSHIKAWA, M.; MURAKAMI, T.; KISHI, A.; KAGEURA, T.; MATSUDA, H. Medicinal flowers. III. Marigold. (I): Hypoglycemic, gastric emptying inhibitory, and gastroprotective principles and new oleanane-type triterpene oligoglycosides, calendasaponins A, B, C, and D, from Egyptian *Calendula officinalis*. *Chem. Pharm. Bull.*, v. 49, p. 863-870, 2001.

11. SUGESTÕES PARA LEITURA

- HOSTETTMANN, K.; MARSTON, A. *Saponins-chemistry and pharmacology of natural products*. Cambridge: University, 1995.
- HARBORNE, J.B. *Phytochemical methods- a guide to modern techniques of plant analysis*. 2.ed. London: Chapman & Hall, 1984.

COMPOSTOS COM ENXOFRE

AUTOR

Berta Maria Heinzmann

SUMÁRIO DO CAPÍTULO

1. Introdução, conceituação e importância
2. Propriedades químicas
3. Ocorrência e distribuição
4. Biogênese
5. Atividades biológicas e emprego farmacêutico
6. Implicações do uso na alimentação
7. Métodos de extração e obtenção
8. Métodos de doseamento
9. Métodos de análise e caracterização
10. Drogas vegetais clássicas
11. Referências bibliográficas
12. Sugestões para leitura

1. INTRODUÇÃO, CONCEITUAÇÃO E IMPORTÂNCIA

Os compostos com enxofre são metabólitos vegetais secundários derivados de aminoácidos. Caracterizam-se por apresentar vários aspectos comuns; dentre eles pode ser citado o uso das plantas que os contêm como condimento e/ou alimento. As substâncias com atividade biológica originam-se após a hidrólise de um precursor contido no vegetal pela ação de uma enzima. Substrato e enzima encontram-se em compartimentos distintos no vegetal intacto, esta só entra em contato com o seu substrato após o rompimento das paredes celulares. Outra propriedade comum dos compostos com enxofre diz respeito às suas principais atividades biológicas pois, a despeito das diferenças estruturais existentes entre eles, a grande maioria apresenta atividade antimicrobiana, tendo também sido descrita atividade protetora contra certas doenças degenerativas como o câncer e contra doenças cardíacas (Potter e Steimetz, 1996; Frölich et al., 1997; Das et al., 2000; Hecht, 2000; Mithen et al., 2000).

Existem duas classes de constituintes vegetais contendo enxofre de importância biológica. Uma dessas classes é caracterizada por tio-glicosídeos, também denominados glicosinolatos, que apresentam uma unidade de açúcar ligada a uma aglicona. Por hidrólise, através da enzima mirosinase, os glicosinolatos originam β -D-glicose e uma aglicona instável, que

sofre rearranjo espontâneo com a perda de sulfato, originando um isotiocianato como produto majoritário, sendo esta a substância responsável por grande número de atividades biológicas (Botti et al., 1995). A segunda classe de substâncias vegetais contendo enxofre é representada pela aliina, que ocorre principalmente no alho. A aliina, pela ação da enzima aliinase, origina a alicina que, juntamente com seus produtos de degradação, é responsável pelas atividades biológicas e pelo odor característico do alho (Reuter, 1990; Kang et al., 2001).

2. PROPRIEDADES QUÍMICAS

Os glicosinolatos são classificados em alifáticos, aromáticos e indólicos, com base no aminoácido do qual derivam: metionina, fenilalanina (e tirosina) ou triptofano, respectivamente (Dawson et al., 1993; Chavadej et al., 1994). Os principais tio-glicosídeos encontrados nos vegetais são a sinigrina, da mostarda-negra, a sinalbina, da mostarda-branca, a gliconapina, da colza, além dos glicosinolatos contidos em vegetais comestíveis como o brócolis, o repolho e o nabo (Verhoeven et al., 1997; Fahey et al., 2001; Verkerk et al., 2001). Quando hidrolisados pela enzima mirosinase, estes originam isotiocianatos.

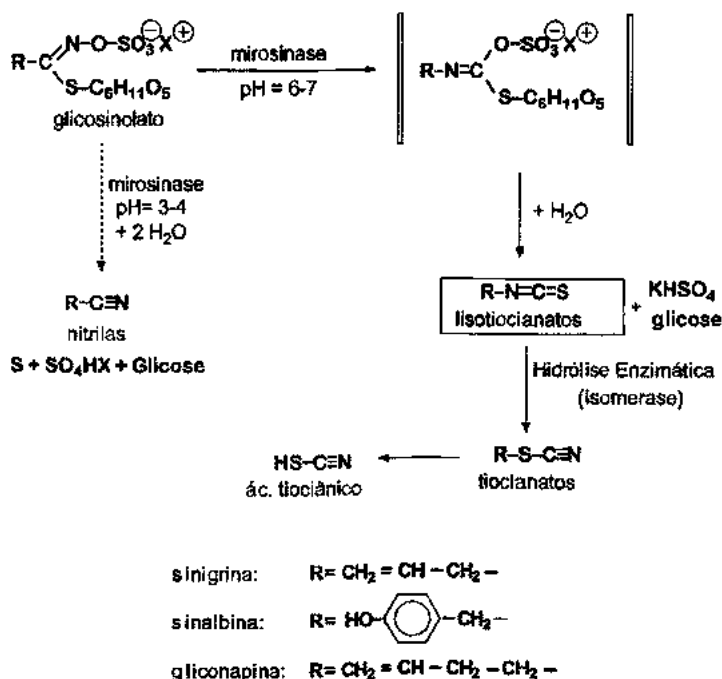


Figura 1. Transformação enzimática dos glicosinolatos

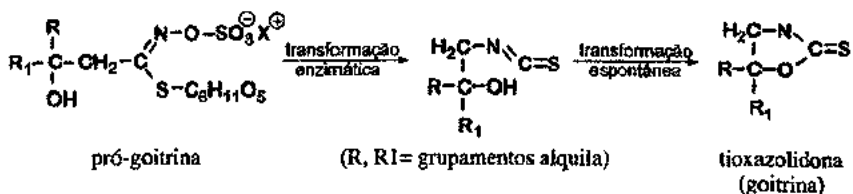


Figura 2. Formação de goitrina a partir dos glicosinolatos

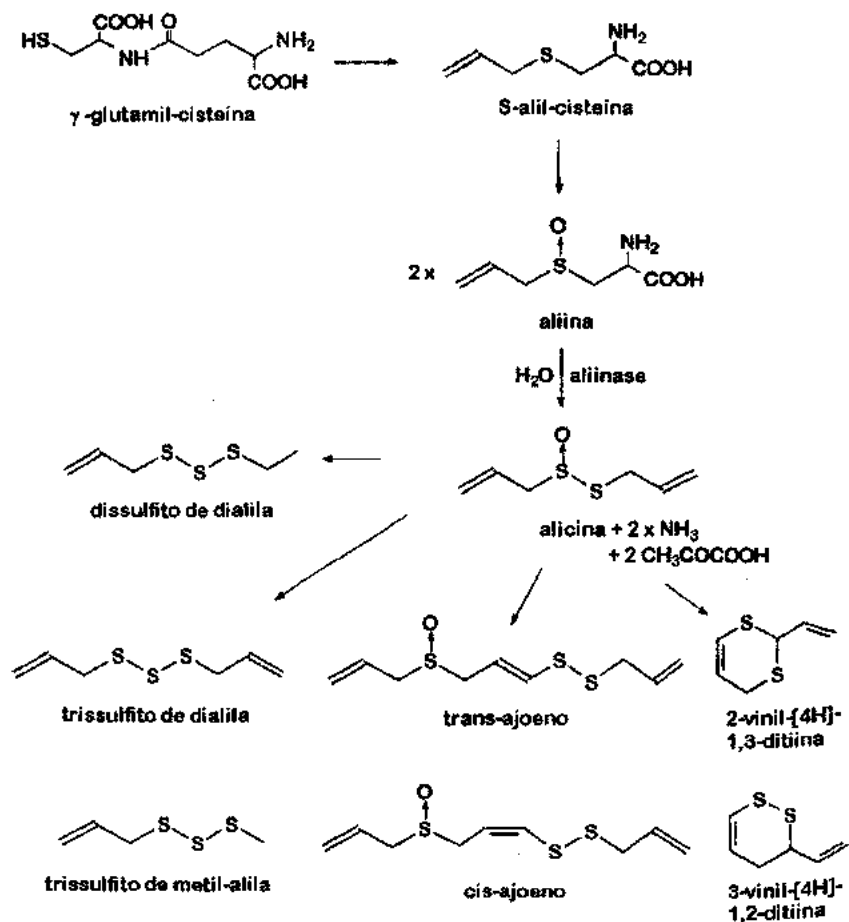


Figura 3. Origem da alicina e seus produtos de degradação

anatos, nitrilas, tiocianatos ou um composto similar (figura 1). Em algumas plantas ocorre a transformação dos glicosinolatos em tiocianatos, podendo, estes últimos, originarem, por hidrólise, ácido tiocianico por hidrólise. Quando a hidrólise dos tio-glicosídeos se dá em pH 3 a 4, originam-se nitrilas. Em espécies como *Brassica oleracea* L. e *Brassica napus* L., entre outras, ocorrem tioglicosídeos cuja aglicona é alifática e apresenta um grupamento hidroxila em posição β . Após a hidrólise da ligação glicosídica, essas agliconas originam, espontaneamente, por ciclização, as tioxazolidonas, também denominadas goitrinas, de atividade antitireoidiana (figura 2) (Wagner, 1993).

No caso do alho, as células intactas contêm sulfoxido de (+)-S-alil-L-cisteína, composto inodoro, conhecido como aliina, que ocorre no bulbo em concentrações em torno de 1% de peso fresco. Quando ocorre lise celular, a aliina entra em contato com a enzima aliinase, que se encontra estocada em vacúolos no interior das células e converte a aliina em alicina (tiosulfinato de dialila) (figura 3). Pela degradação da alicina e adição de alguns produtos de degradação originados na decomposição dessa substância, originam-se outros compostos com enxofre, como o *cis*- e o *trans*-ajoeno, a 2-vinil-[4H]-1,3-diitina e a 3-vinil-[4H]-1,2-diitina. Esses compostos também apresentam atividade biológica e podem ser isolados de preparações à base de alho (Reuter, 1990; Lawson, 1993; Sticher, 1991; Rosen et al., 2001).

3. OCORRÊNCIA E DISTRIBUIÇÃO

Os glicosinolatos são encontrados exclusivamente em dicotiledôneas (Lawson, 1993), principalmente na ordem das Capparales. Têm uma distribuição limitada, tendo sido encontrados em 16 famílias vegetais, destacando-se, entre elas, as famílias Brassicaceae, Capparidaceae, Resedaceae, Moringaceae e Tropaeolaceae (Ahamed et al., 1972; Jongen, 1996). No âmbito farmacêutico destaca-se a família Brassicaceae, que inclui condimentos (mostarda) e vegetais utilizados como alimentos (brócolis, repolho, nabo), além de sementes oleaginosas importantes na agricultura (colza) (Fahey et al., 2001). A aliina e substâncias relacionadas ocorrem na família Liliaceae, sendo particularmente abundantes no alho (*Allium sativum* L.). Também ocorrem em espécies afins, como a cebola (*Allium cepa* L.) e alho-poró (*Allium porrum* L.) (Vannereau e Mellouki, 1996; Schulz et al., 1998).

4. BIOGÊNESE

A biogênese dos glicosinolatos ocorre a partir de aminoácidos alifáticos e aromáticos (fig. 4) e é conhecida por envolver oximas, tio-hidroxiatos e dessulfoglicosinolatos como produtos intermediários. A rota biogenética principal atualmente aceita envolve N-hidroxilação e descarboxilação oxidativa, sendo que o primeiro passo origina uma aldoxima intermediária. Esta

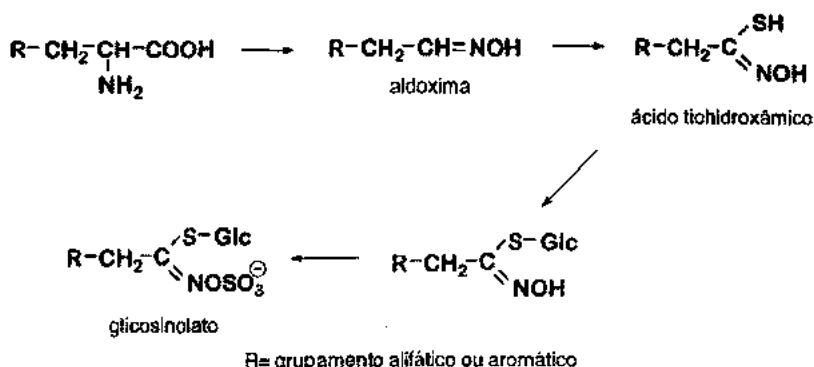


Figura 4. Biogênese dos glicosinolatos

reação é comum entre os glicosinolatos e os heterosídeos cianogénéticos e é catalisada por enzimas homólogas do citocromo P450 (Mithen et al., 2000). Mais recentemente têm sido descritas rotas metabólicas alternativas para a biossíntese dos glicosinolatos, como, por exemplo, a rota metabólica de alongamento da metionina e fenilalanina que, segundo Graser et al. (2000), estaria envolvida na biossíntese dos glicosinolatos presentes em *Brassica napus* L. e *Eruca sativa* Mill.

O precursor da aliina no bulbo do alho é a γ -glutamyl-cisteína. Essa substância origina a S-alil-cisteína por hidrólise, que, por oxidação, dá origem à aliina (figura 3) (Lawson, 1993).

5. ATIVIDADES BIOLÓGICAS E EMPREGO FARMACÉUTICO

Os glicosinolatos e seus produtos de degradação hidrolítica têm odor marcante e sabor pungente e apresentam uma série de efeitos biológicos envolvendo comunicação inter-espécies, que abrangem desde repelência química até a estimulação da oviposição. Devido a estas atividades biológicas, alguns autores sugerem sua utilização no controle de pragas (Dhar et al., 1996; Francis et al., 2001). São responsáveis pelas características organolépticas únicas de muitos dos condimentos que acentuam o sabor dos alimentos. Alguns produtos de hidrólise específicos também têm mostrado vários efeitos sobre o organismo humano (Mithen et al., 2000).

Os glicosinolatos propriamente ditos, tais como sinigrina, sinalbina e gliconapina, apresentam atividades biológicas sem muita importância, mas liberam produtos biologicamente ativos na degradação enzimática pela mirosinase em presença de água. Os compostos ativos originados podem ser isotiocianatos, cianetos orgânicos, oxazolidinotinas e tiocianatos iônicos, que são responsáveis pelos efeitos tóxicos de plantas pertencentes à família Bras-

sicaceae frente a insetos, nematóides, fungos e mesmo outras plantas (Vaughn e Boydston, 1997; Oliver et al., 1999).

O interesse farmacológico principal do alho concentra-se atualmente na sua ação sobre a hipertensão, a arteriosclerose, agregação plaquetária e metabolismo lipídico, sistema imunológico e inibição da carcinogênese (Ackermann et al., 2001; Gupta e Porter, 2001; Kang et al., 2001; Kannar et al., 2001; Yang et al., 2001).

6. IMPLICAÇÕES DO USO NA ALIMENTAÇÃO

Pesquisas indicam que constituintes não-nutritivos contidos em vegetais utilizados na alimentação têm função importante na dieta como agentes protetores contra algumas doenças degenerativas. Dentre estes constituintes encontram-se os produtos de degradação dos glicosinolatos presentes em espécies de *Brassica*, bem como os produtos de degradação da alicina do alho (Potter e Steinmetz, 1996; Dirch et al., 1998; Das et al., 2000; Mithen et al., 2000; Kannar et al., 2001; Shapiro et al., 2001).

7. MÉTODOS DE EXTRAÇÃO E OBTENÇÃO

Os glicosinolatos são extraídos com álcool em ebulição (solução metanólica a 80% ou etanol) a partir do tecido vegetal fresco. No caso dos glicosinolatos estarem contidos nas sementes, estas são pulverizadas e desengorduradas, seguindo-se extração com etanol ou metanol a 70% (Stahl e Schild, 1981; Harborne, 1984). Os glicosinolatos também podem ser extraídos das plantas por homogeneização dos tecidos vegetais com uma mistura de volumes iguais de dimetil-sulfóxido, dimetil-formamida e acetonitrila a - 50°C (Fahey et al., 1997). A purificação pode ser realizada por diversos métodos: colunas de troca iônica, cromatografia em papel com posterior eluição das manchas correspondentes, cromatografia sobre alumina (Harborne, 1984). Mais recentemente têm sido desenvolvidos métodos de separação por cromatografia de interação hidrofílica e cromatografia iônica de fase reversa (Troyer et al., 2001).

Os isotiocianatos são obtidos do tecido vegetal triturado por destilação com vapor d'água ou por hidrólise ácida ou enzimática dos glicosinolatos. Neste caso, após a extração do material vegetal conforme descrito acima, o líquido extrativo é concentrado e o concentrado aquoso é então tratado pela mirosinase. Os isotiocianatos originados podem ser extraídos com éter etílico. Os isotiocianatos voláteis são separados por cromatografia gasosa, cromatografia em papel ou em camada delgada como derivados da tio-uréia (Harborne, 1984). Outros produtos de transformação dos glicosinolatos, como as nitrilas, podem ser separados por CLAE preparativa (Matusheski et al., 2001). Para a obtenção dos isotiocianatos puros foi desenvolvida técnica utilizando a enzima mirosinase imobilizada em nylon, através da técnica de *crosslinking* (Leoni et al., 2000).

Aliina e seus produtos de transformação: a aliina é obtida a partir do alho fresco por extração com etanol a temperaturas inferiores a 0°C, enquanto que a alicina pode ser extraída com etanol diluído à temperatura ambiente (Block, 1989); no entanto, devido à sua instabilidade, é de difícil isolamento (Reuter, 1990). Os sulfitos podem ser separados a partir da fração volátil dos bulbos do alho por cromatografia gasosa (Harborne, 1984).

8. MÉTODOS DE DOSEAMENTO

A sinalbina da mostarda-branca pode ser quantificada por titulometria, tendo sido desenvolvidos um método iodométrico e um método acidimétrico para este fim (Incze, 1981), enquanto que para a sinigrina foi otimizado um método de determinação por cromatografia iônica de fase reversa (Jen et al., 2001). A literatura também descreve a utilização de um método acidimétrico para a determinação quantitativa do isotiocianato de aliila, presente na mostarda-negra (Chikkaputtaiah et al., 1971). A oxidimetria também é adequada à quantificação desta substância, sendo a cloramina-T utilizada como agente oxidante (Shankaranarayana et al., 1972). A determinação quantitativa dos isotiocianatos orgânicos pode ser realizada por espectroscopia no UV, após a ciclocondensação destes com dióis vicinais (Zhang et al., 1992; Prestera et al., 1996). A cromatografia gasosa pode ser utilizada para a determinação de nitrilas originadas a partir dos glicosinolatos do brócolis (Matusheski et al., 2001). Para o doseamento da alicina, foram desenvolvidos inicialmente métodos titulométricos e colorimétricos para a determinação do enxofre total (Sticher, 1991). A seguir passou-se a utilizar a cromatografia gasosa, muitas vezes acoplada à espectrometria de massas (Koch, 1990; Rosen et al., 2001). No entanto, devido à instabilidade térmica da alicina, somente alguns de seus produtos de degradação, como as vinil-ditiínas e os sulfitos, podem ser determinados, sendo a quantificação da alicina realizada indiretamente (Sticher, 1991). Atualmente, o método mais utilizado para a determinação quantitativa dos compostos com enxofre do alho é a CLAE, eventualmente acoplada a um espectrômetro de massas (Adam e Becker, 2000). A alicina pode ser determinada após a ação da aliinase imobilizada (Keusgen, 1998) ou juntamente com a aliina por cromatografia iônica de fase reversa com detector UV do tipo fotodiodo (Mochizuki et al., 1997). A CLAE também é o método de escolha para a determinação dos metabólitos do alho em fluidos fisiológicos e no ar expirado (Shin e Matsuura, 2000; Rosen et al., 2001). A alicina também pode ser determinada por RMN, após derivatização, em preparações comerciais à base de alho (Miron et al., 1998).

9. MÉTODOS DE ANÁLISE E CARACTERIZAÇÃO

Os métodos cromatográficos são os mais utilizados para a análise dos compostos com enxofre. Além da cromatografia gasosa e da CLAE, também

utilizadas na análise quantitativa (ver item 8), a literatura cita a cromatografia em papel e a cromatografia em camada delgada sobre gel de sílica como métodos de análise adequados para esta classe de substâncias. Para a análise dos glicosinolatos e dos isotiocianatos podem ser utilizados vários eluentes e diferentes métodos de detecção (Stahl e Schild, 1981; Harborne, 1984). Os constituintes do alho também podem ser analisados por cromatografia em camada delgada (Molnar et al., 1991; Keusgen, 1997). Outra possibilidade para a análise dos compostos com enxofre são os métodos espectroscópicos: ultravioleta, infravermelho (Stahl e Schild, 1981), espectrometria de massas e ressonância magnética nuclear (Koch, 1990; Prestera et al., 1996; Miron et al., 1998). Os glicosinolatos que ocorrem no estado sólido e cuja estrutura é conhecida podem ser caracterizados pelo ponto de fusão (Stahl e Schild, 1981).

10. DROGAS VEGETAIS CLÁSSICAS

MOSTARDA

Nomes científicos: *Brassica nigra* (L.) W.D.J.Koch (= *Sinapis nigra* L. e *Sinapis alba* L.)

Família botânica: Brassicaceae

Parte usada: sementes de mostarda-negra ou alemã (*Brassica nigra*) e mostarda-branca ou amarela (*Sinapis alba*).

São empregadas as sementes maduras e secas das síliquas. As plantas são herbáceas e atingem até 1 m de altura. O óleo é obtido a partir das sementes moídas, após a expressão do óleo graxo/fixo, misturando-se o resíduo obtido com água e destilando-se por arraste de vapor d'água. Embora o conteúdo de óleo fixo destas sementes exceda a quantidade de óleo volátil originado pela hidrólise, este último é o responsável pelas atividades biológicas. A mostarda-branca é comercialmente tão importante quanto a mostarda-negra. Sua principal utilização também é como condimento, sendo que a mostarda-branca é mais suave do que a negra (Wagner, 1993; Robbers et al., 1996).

Emprego na alimentação: O fato da mostarda não conter colesterol e apresentar apenas traços de gorduras vegetais, classifica-a como condimento pouco calórico (1 g de pó de mostarda equivale a 4,3 cal) e faz com que seja utilizada praticamente sem restrição para acentuar o sabor dos alimentos. Tradicionalmente, é utilizada também na medicina popular em algumas regiões, principalmente na forma de cataplasmas e compressas, devido às suas atividades antibacteriana e estimulante da circulação sanguínea, neste último caso principalmente em regiões inflamadas (Wagner, 1993; Chavadej et al., 1994).

Informações históricas: O uso da mostarda como condimento e planta medicinal remonta aos tempos da Grécia antiga. Com o passar dos séculos, foram criadas leis que protegiam os produtores de mostarda, garantindo assim a qualidade do produto. No início do século XVIII sua utilização decaiu, em parte por

causa das novas especiarias providas das Américas e do Oriente. Em 1856 o vinagre foi substituído pelo vinho no preparo da mostarda, o que resultou em uma especiaria menos ácida do que aquela consumida na França até então. Este condimento suave assumiu a partir daí o seu papel na história (Anônimo, 1970).

Dados químicos:

A mostarda-negra contém cerca de 1% de sinigrina (estrutura: ver fig. 1). O isotiocianato de alila, produzido a partir da hidrólise da sinigrina, é volátil e é comumente denominado óleo de mostarda. A mostarda-branca contém a sinalbina, que através da hidrólise origina isotiocianato de *p*-hidróxi-benzila (fig. 1), de sabor pungente, não volátil e lacrimogêneo (Wagner, 1993). Além de 2,5% de sinalbina, a mostarda-branca também contém proteínas com atividade antimicrobiana, denominadas gama-tioninas, globulinas e óleos fixos/graxos. A alergia à mostarda-branca é causada por uma proteína com dois sítios alergênicos principais (Domínguez et al., 1990; Menéndez-Arias et al., 1990; Marcone et al., 1997).

Dados farmacológicos:

Das plantas que produzem glicosinatos, as mostardas negra e branca são as de maior interesse farmacêutico, devido à atividade antibacteriana de seus constituintes. O espectro de ação destes engloba bactérias gram-positivas e gram-negativas, sendo o isotiocianato de benzila mais ativo do que o isotiocianato de alila (Wagner, 1993). A atividade excitatória do óleo de mostarda sobre a musculatura é de natureza reflexa; além desta, apresenta efeitos inflamatório e irritante. Nos casos de inflamação, o óxido nítrico liberado pelo endotélio exerce função mediadora (Lippe et al., 1993). Também foi relatado efeito antimicrobiano em casos de dermatofitose induzida em cobaias e atividade antioxidante (Abraham et al., 1975; Chung et al., 1997).

Precauções de uso:

Embora a mostarda seja consumida frequentemente, são raros os casos de hipersensibilidade descritos na literatura. A mostarda-negra é irritante local e emética; externamente, é rubefaciente. Tanto a mostarda-negra quanto a sinalbina, principal constituinte da mostarda-branca, tem atividade vesicante e o potencial de provocar reações alérgicas, eventualmente devido ao uso tópico, preconizado na medicina popular. São conhecidos casos de dermatite alérgica, de urticária (Kavli e Moseng, 1987) e hipersensibilidade (Widsröm e Johanson, 1986; Malet et al., 1993; Rance e Dutau, 1997). Casos de reações alérgicas do tipo anafilático, em pessoas com hipersensibilidade à mostarda, também são descritos, sendo sugerido o mecanismo de hipersensibilização do tipo I (Stahl e Schild, 1981; Monreal et al., 1992; Jorro et al., 1995). Hipersensibilidade específica à mostarda dificilmente é detectada nos casos de manifestações alérgicas “idiopáticas” frente a alimentos industrializados, uma vez que, quase sempre, é omitida a composição total destes produtos (Moss, 1975; Kanny et al., 1995).

BRÁSSICA

Nomes científicos:

Brassica oleracea L. e suas variedades:

- var. *botrytis* L. subvar. *cauliflora* (Gars.) DC.: couve-flor;
- var. *botrytis* L. subvar. *cymosa* Lamk.: brócolis
- var. *gongylodes* L.: couve-rábano
- var. *gemmifera* DC.: couve-de-bruxelas
- var. *capitata* L.: repolho
- var. *acephala* L.: couve-manteiga

Brassica napus L. e suas variedades:

- var. *arvensis* (Lam.) Thell.: colza, canola
- var. *napobrassica* (L.) Peterm: nabo-branco

Brassica rapa L.: nabo-forrageiro

Raphanus sativus L. var. *radicula* Pers.: rabanete

Eruca sativa Mill.: rúcula

Nasturtium officinale R. Br.: agrião

Família botânica: Brassicaceae

Partes usadas: diversas, como folhas, inflorescências, sementes e partes subterrâneas.

Emprego na alimentação: Vegetais como repolho, couve, couve-flor, couve-de-bruxelas, brócolis, rabanete, rúcula, agrião, entre outros, são utilizados na alimentação. A concentração em compostos com enxofre é maior nas inflorescências, variando significativamente de acordo com a estação, cultivar e condições climáticas (Ciska et al., 2000; Rosa e Rodrigues, 2001). A colza, a canola e o nabo são utilizados também na alimentação de animais domésticos. No caso da colza, os compostos com enxofre encontram-se nas sementes (Fahey et al., 2001).

Dados químicos:

Dentre os cerca de cem diferentes glicosinolatos isolados até o momento, apenas 13 foram detectados em espécies comestíveis de *Brassica*; entre eles encontram-se glicotropaeolina, sinalbina, sinigrina, glicobrassicina e glicorafanina (Wattenberg et al., 1985; Mc Danell et al., 1989; Matusheski e Jeffery, 2001; Vang et al., 2001). As enzimas que hidrolisam os glicosinolatos são produzidas por plantas e por organismos de ruminantes. Estas atuam sobre os glucosinolatos quando o tecido vegetal é triturado, por ex. na mastigação ou quando a planta é consumida por um animal ruminante. Vegetais da família Brassicaceae também contêm ascorbigeno, composto derivado do ácido ascórbico, com propriedades imunomoduladoras (Preobrazhenskaya et al., 1993), sendo seu processo de formação diretamente relacionado à concentração de glicobrassicina no material vegetal (Hrnčirik et al., 2001). Nastruzzi et al. (2000) comprovaram que a transformação dos glicosinolatos em isotiocianatos e nitrilas é quantitativa, sendo os primeiros mais potentes no que se refere à inibição do crescimento de células tumorais.

Dados farmacológicos:

A inclusão de espécies de *Brassica* na dieta parece ajudar a proteger contra o câncer de reto, cólon, pulmão, esôfago e leucemias (Das et al., 2000; Hecht, 2000; Xu e Thornalley, 2001). Os resultados dos testes farmacológicos até agora realizados indicam que alguns produtos de hidrólise dos glicosinolatos, como os indóis e os isotiocianatos, são capazes de induzir a atividade de enzimas das fases 1 e 2 de biotransformação, influenciando, assim, vários processos relacionados com a carcinogênese química, como o metabolismo, a atividade mutagênica e a capacidade dos agentes mutagênicos de se ligarem ao DNA. A concentração dos isotiocianatos, produtos de maior atividade frente às enzimas de biotransformação, é influenciada diretamente pelo processamento do vegetal durante a preparação dos alimentos (Conaway et al., 2000; Mithen et al., 2000; Ciska e Kozłowska, 2001; Verkerk et al., 2001). Além de inúmeros testes pré-clínicos realizados visando a comprovação da atividade protetora dos glicosinolatos e seus produtos de degradação frente à carcinogênese, recentemente têm sido realizados estudos de biodisponibilidade destes compostos em humanos. Os isotiocianatos, substâncias de maior atividade protetora contra o câncer *in vitro*, apresentam uma biodisponibilidade seis vezes maior que os glicosinolatos e sofrem conjugação com a glutatona *in vivo*, sendo metabolizados, originando o ácido mercaptúrico. Os metabólitos dos isotiocianatos recebem a denominação geral de ditiocarbamatos e podem ser detectados na urina (Conaway et al., 2000; Mithen et al., 2000; Shapiro et al., 2001). Paralelamente aos estudos químicos e farmacológicos, estão sendo realizadas as primeiras pesquisas visando o desenvolvimento de uma forma farmacêutica contendo glicosinolatos (Cortesi et al., 2000).

Dados toxicológicos:

Os primeiros efeitos tóxicos descritos para os isotiocianatos e outros produtos de degradação dos glicosinolatos foram a inibição geral da absorção de iodo pela tireóide e a propriedade de provocar o aparecimento de bócio (Stoewsand, 1995). Os efeitos sobre a tireóide foram comprovados em diversas pesquisas. Estudos recentes, realizados com porcos e ovelhas, confirmaram a atividade dos glicosinolatos sobre o sistema endócrino, tendo sido detectado aumento nas concentrações plasmáticas de T3, T4, pró-lactina, progesterona e androstenodiona. O período mais crítico para o desenvolvimento do hipotireoidismo foi durante a gravidez e a lactação, sendo que esta atividade também se manifestou sobre a prole, inclusive com a ocorrência de bócio congênito. No entanto, os efeitos antitireoidianos dos glicosinolatos mostraram-se reversíveis pela suplementação alimentar com iodo e selênio (Kursa et al., 2000; Opalka et al., 2001). Animais com dieta rica em colza apresentaram efeitos teratogênicos, tendo ocorrido também uma diminuição da fertilidade relacionada com a presença de glicosinolatos (Sharpe et al., 1975; Mawson et al., 1994).

Precauções de uso:

Embora quantidades excessivas de glicosinatos consumidas por animais possam reduzir seu crescimento, além de afetar as funções da tireóide, fígado e rins, existem apenas evidências mínimas destes efeitos sobre o organismo humano (Heaney et al., 1995). Os trabalhos até agora realizados permitiram concluir que, em seres humanos, uma dieta diária estimada em 0,1 g de glicosinatos somente pode ser considerada como um risco para a saúde nos casos de deficiência de iodo (Schöne, 1993). A adição de quantidade extra de iodo na dieta pode ajudar a contrabalançar os efeitos antitireoidianos dos isotiocianatos, porém não atua sobre os efeitos das oxazolidino-2-tionas, que são produtos da hidrólise das tioxazolidonas (estrutura: ver fig. 2). Pesquisas relativamente recentes permitiram o desenvolvimento de cultivares de colza com baixos teores de glicosinatos, como, por exemplo, a canola, que pode assim ser utilizada em quantidades elevadas na suplementação protéica do gado (Chavadej, 1994), sem os riscos apontados anteriormente. Os isotiocianatos de alila e fenetila, comumente encontrados em espécies comestíveis de *Brassica*, apresentaram efeitos genotóxicos em testes realizados com bactérias *in vitro*. Ensaios posteriores, realizados com bactérias *in vivo* e na presença de homogenados de tecido hepático, albumina sérica bovina e saliva humana, indicaram uma genotoxicidade consideravelmente menor, sugerindo que as substâncias testadas sofrem detoxificação pela ligação às proteínas (Kassie e Knasmüller, 2000). Os resultados obtidos até o momento não permitem concluir sobre um possível risco genotóxico para seres humanos, uma vez que os testes foram realizados em bactérias, *in vitro* e por curto período de tempo.

ALHO

Nome científico: *Allium sativum* L.

Família botânica: Liliaceae

Parte usada: bulbo maduro, fresco, formado por 6 a 15 dentes.

Monografias farmacopéicas: Farm. Bras. I supl., Ph. Helv. VI, Pharm Eur., USP 24.

Dados químicos:

A alicina, composto originado a partir da hidrólise da aliina (estrutura - ver figura 3), tem atividade antibacteriana potente. Decompõe-se rapidamente na presença de ar e água, originando dissulfeto de dialila, trissulfeto de dialila e os polissulfetos correspondentes, todos apresentando um odor intenso. O dissulfeto de dialila é o principal responsável pelo odor característico do alho. O mesmo processo de degradação ocorre no organismo, motivo pelo qual o ar expirado apresenta o mesmo odor após sua ingestão. Além de conter aliina, o alho contém proteínas, ácidos graxos, carboidratos, flavonóides, vitaminas A, B1, B2, C, adenosina e saponinas esteroidais, tendo estas apresentado efeitos inibitórios sobre a coagulação sanguínea (Reuter, 1990, Lawson, 1993,

Matsuura et al., 2001). A teoria mais aceita para explicar as atividades biológicas do alho baseia-se na reatividade apresentada pela alicina e por alguns de seus produtos de degradação frente a grupamentos sulfidríla de proteínas. Uma vez que foi demonstrado *in vitro* que a alicina inibe um grande número de enzimas, cujos sítios ativos contém cisteína, presume-se que os constituintes do alho contendo um grupamento di-tio-alila reagem com grupamentos sulfidríla de enzimas, bem como com a acetil-CoA-SH, unidade fundamental na biossíntese do colesterol e dos triglicerídeos (Lawson, 1993, Dunn e Le Blanc, 1994). Testes *in vitro* evidenciaram a alta permeabilidade da alicina através das membranas fosfolipídicas e também sua rápida difusão e permeação através das membranas dos eritrócitos. Após sua penetração no organismo, a alicina reage com a glutatona reduzida, cujo produto foi isolado e identificado e é o responsável pela inativação de enzimas contendo grupamentos SH (Rabinkov et al., 2000, Miron, et al., 2000). Recentemente foi desenvolvido um método de síntese para a alicina (Cruz-Villalon, 2001).

Dados farmacológicos:

Investigações farmacológicas realizadas *in vitro* e *in vivo* indicaram para o alho atividades antibacteriana, antimicótica, antiviral, antiparasitária, antitumoral, antiflogística, imunomoduladora, antioxidante e fibrinolítica, além de inibição da agregação plaquetária e diminuição das taxas de triglicerídeos e colesterol. A alicina atua contra bactérias patogênicas gram-positivas e gram-negativas, incluindo alguns microrganismos resistentes a antibióticos. O efeito antimicrobiano principal da alicina é devido à sua reação química com grupamentos tiol de várias enzimas como a álcool-desidrogenase, tioredoxina redutase e RNA polimerase (Ankri e Mirelman, 1999, Samuel et al., 2000). Recentemente vários estudos demonstraram a atividade do alho contra *Helicobacter pylori* (Jonkers et al., 1999; O'Gara et al., 2000; Sivam, 2001). Ao contrário do que acontece com a maioria dos extratos vegetais, a atividade antimicótica do alho é mais intensa do que a sua atividade antibacteriana (Avato et al., 2000).

A atividade anti-hipertensiva tem sido investigada e é atribuída à presença de peptídeos sulfurados, que atuam aumentando os níveis fisiológicos de óxido nítrico (Das et al., 1995). Ensaios clínicos controlados realizados em hipertensão, com produtos padronizados quanto ao teor de alicina, foram descritos por Grasberger (1997). Os resultados não foram conclusivos sobre a efetividade do alho como agente anti-hipertensivo, uma vez que os ensaios foram realizados com um número limitado de pacientes e por curto espaço de tempo. Testes clínicos, realizados por Kalus et al. (2000), evidenciaram um efeito vasodilatador para o alho através da redução da pressão arterial, viscosidade plasmática e plaquetária e do hematócrito. Resultados de ensaios *in vitro* indicam um efeito vasodilatador para a alicina (Kaye et al., 2000).

Um maior número de ensaios clínicos foi realizado em hiperlipidemias.

A diminuição das taxas de triglicerídeos e colesterol foi constatada em estudo clínico com pacientes hiperlipidêmicos, em um experimento controlado, sendo o tratamento realizado por 16 semanas com comprimidos de alho padronizados quanto ao teor de aliina (Mader, 1990). Uma meta-análise envolvendo 16 ensaios clínicos e um total de 952 pacientes indicou efetiva redução dos níveis séricos de colesterol e triglicerídeos (Silagy e Neil, 1994); por outro lado, dois outros ensaios clínicos controlados indicaram ausência de eficácia (Luley et al., 1986). Dentre os estudos clínicos realizados recentemente, encontram-se aqueles que descrevem a redução dos níveis séricos de colesterol pelo alho (Yeh e Liu, 2001) em contraste com outros, cujos resultados indicam ausência desta atividade (Gardner et al., 2001). Uma meta-análise, realizada por Stevinson et al. (2000), levou os autores a questionarem o valor da utilização do alho no tratamento da hipercolesterolemia, uma vez que a diferença entre os grupos tratado e controle é modesta. Estudos de disponibilidade *in vitro* com comprimidos de revestimento entérico a base de alho, forma farmacêutica mais utilizada, detectaram uma baixa taxa de liberação da alicina, devido à diminuição da atividade da aliinase, geralmente causada pelos adjuvantes dos comprimidos e/ou desintegração lenta destes. Por este motivo, estudos sobre a atividade biológica do alho só podem ser considerados válidos quando a liberação de alicina dos comprimidos tenha sido determinada sob condições padronizadas (Lawson e Wang, 2001, Lawson et al., 2001). Estudo clínico realizado sob estas condições foi publicado por Kammar et al. (2001), sendo que os resultados indicam uma redução significativa nos níveis séricos totais de colesterol e LDL do grupo tratado em relação ao controle. Segundo Gebhardt (1994), ação hipocolesterolemia *in vitro* está associada à inibição da biossíntese do colesterol nos hepatócitos, sendo que o ajoeno também apresenta este efeito. Ensaios *in vitro*, realizados visando determinar o mecanismo da ação hipocolesterolemia dos constituintes do alho, indicam que a enzima esqualeno monooxigenase, que cataliza um dos passos limitantes da velocidade na biossíntese do colesterol, é um dos alvos destes compostos, sendo que sua inibição é lenta e irreversível, sugerindo uma ligação covalente à enzima (Gupta e Porter, 2001). A alicina e o ajoeno também inibem a expressão da enzima óxido nítrico sintase induzível, presente nas lesões ateroscleróticas humanas e que provoca a ação do peróxido-nitrito, de ação deletéria (Kierner et al., 1998).

Estudos comparativos quanto à inibição da agregação plaquetária demonstraram que esta é mais intensa no caso da alicina e do tiossulfonato de dipropila, sendo a atividade destes dois constituintes significativamente maior do que a do ácido acetilsalicílico em doses correspondentes (Briggs et al., 2000). Estudos indicam que o mecanismo de ação da atividade inibitória sobre a agregação plaquetária e da atividade fibrinolítica envolve a inibição dos receptores de fibrinogênio nos trombócitos (Robbers et al., 1996). Também tem sido investigada a ação hipoglicêmica: a aliina provocou uma melhoria

significativa no aproveitamento da glicose pelas células de ratos diabéticos, tendo demonstrado atividade quase tão intensa quanto a insulina e a glibenclamida. Esta atividade anti-diabética pode ser explicada pelo fato da aliina exercer um controle maior sobre a peroxidação lipídica do que as outras duas substâncias citadas, além de apresentar um efeito estimulante da secreção de insulina (Augusti e Sheela, 1996).

A atividade antioxidante apresentada por extratos à base de alho e pela alicina pode ser explicada pela inativação de espécies reativas de oxigênio e pelo aumento de enzimas celulares antioxidantes como a superóxido-dismutase, a catalase, a glutatona-peroxidase e pelo aumento de glutatona nas células (Siegers et al., 1999; Borek, 2001).

Testes *in vitro* e *in vivo* indicam que a atividade antitumoral de preparados à base de alho é devida, principalmente, à estimulação de enzimas do citocromo P450, atividade antioxidante, aumento da apoptose e inibição de enzimas específicas das células tumorais (Arivazhagan et al., 2000; Balasenthil et al., 2000; Karasaki et al., 2001; Shirin et al., 2001; Yang et al., 2001). Outra explicação pode ser a atividade imunoestimulante do alho, uma vez que seus efeitos mostraram semelhança à imunoterapia por BCG (Lamm e Riggs, 2001).

Dados toxicológicos:

Os efeitos indesejados mais frequentes ocasionados pela utilização de produtos farmacêuticos a base de alho e também na sua utilização como alimento são as dermatites de contato. Pessoas alérgicas ao alho podem desenvolver uma erupção através do contato ou pela sua ingestão. Um trabalho experimental com teste de sensibilidade mostrou a ocorrência desta reação alérgica em cerca de 5 % dos indivíduos testados (Lembo, 1991). Rafaat e Leung (2000) descreveram a presença de lesões vesiculosas, correspondendo a queimaduras de segundo grau, em criança de 3 meses, decorrentes da aplicação tópica de alho.

Os dados toxicológicos experimentais mais significativos advêm de experimentos realizados em hepatócitos de ratos: os resultados indicaram que, na presença de extratos de alho, ocorre um processo de detoxificação e uma ação antioxidante, mas, também, uma diminuição significativa da viabilidade celular, com alterações morfológicas importantes e diminuição da atividade geral dos hepatócitos (Sheen et al., 1996). Outro estudo também demonstrou a citotoxicidade de extratos de alho, em culturas de hepatócitos (Gebhardt, 1994). As pesquisas indicaram que o alho não apresenta genotoxicidade nem cancerogenicidade; no entanto, estudos visando determinar embriotoxicidade, teratogenicidade e distúrbios de fertilidade ainda não foram realizados (Siegers, 1989). Uma vez que o pó do alho causou lesões na mucosa gástrica, é aconselhável escolher a forma farmacêutica a ser administrada com cautela (Hoshino et al., 2001). A administração concomitante do alho com a varfarina, anticoagulante de ação indireta, pode provocar hemorragia (Fugh-Berman, 2000).

11. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABRAHAM, A.; MOHAPATRA, L. N.; KANDHARI, K. C. et al. The effects of some hair oils and unsaturated fatty acids on experimentally induced dermatophytosis. *Dermatologica*, v. 151, n. 3, p. 144-148, 1975.
- ACKERMANN, R. T.; MULROW, C. D.; RAMIREZ, G.; GARDNER, C. D.; MORBIDONI, L.; LAWRENCE, V. A. Garlic shows promise for improving some cardiovascular risk factors. *Archives of Internal Medicine*, v. 161, n. 6, p. 813-824, 2001.
- ANKRI, S.; MIRELMAN, D. Antimicrobial properties of allicin from garlic. *Microbes and Infection*, v. 1, n. 2, p. 125-129, 1999.
- ANÓNIMO. Mustard. *Flavour Industry*, v. 1, p. 596-598, 1970.
- ARIVAZHAGAN, S.; BALASENTHIL, S.; NAGINI, S. Garlic and neem leaf extracts enhance hepatic glutathione and glutathione dependent enzymes during N-methyl-N-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG)-induced gastric carcinogenesis in rats. *Phytotherapy Research*, v. 14, n. 4, p. 291-293, 2000.
- AUGUSTI, K. T.; SHEELA C. G. Antiperoxide effect of S-allyl cysteine sulfoxide, an insulin secretagogue, in diabetic rats. *Experientia*, v. 52, n. 2, p. 115-120, 1996.
- AVATO, P.; TURI, F.; VITALI, C.; MICCOLIS, V.; CANDIDO, V. Allylsulfide constituents of garlic volatile oil as antimicrobial agents. *Phytomedicine*, v. 7, n. 3, p. 239-243, 2000.
- BALASENTHIL, S.; ARIVAHAGAN, S.; NAGINI, S. Effect of garlic on circulatory oxidant and antioxidant status during 4-nitroquinoline 1-oxide induced rat oral carcinogenesis. *Nutrition Research*, v. 20, n. 11, p. 1581-1589, 2000.
- BLOCK, E. Biologisch aktive Organo-Schwefelverbindungen im Knoblauch. *Deutsche Apotheker Zeitung*, v. 28, n. 15, p. 3-4, 1989.
- BOREK, C. Antioxidant health effects of aged garlic extract. *Journal of Nutrition*, v. 131, Suppl. 3, p. 1010S-1015S, 2001.
- BOTTI, M. G.; TAYLOR, M. G.; BOTTING, N. P. Studies on the mechanism of myrosinase. Investigation of the effect of glycosyl acceptors on enzyme activity. *Journal of Biological Chemistry*, v. 270, n. 35, p. 20530-20505, 1995.
- BRIGGS, W. H.; XIAO, H.; PARKIN, K. L.; SHEN, C. X.; GOLDMAN, I. L. Differential inhibition of human platelet aggregation by selected *Allium* thiosulfonates. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 48, n. 11, p. 5731-35, 2000.
- CHAVADEJ, S.; BRISSON, N.; MC NEIL, J. N. et al. Redirection of tryptophan leads to production of low indole glucosinolate canola. *Proceedings of the National Academy of Sciences U.S.A.*, v. 91, n. 6, p. 2166-2170, 1994.
- CHIKKAPUTTAIAH, K. S.; SHANKARANARAYANA, M. L.; NATARAJAN, C. P. Volumetric determination of allyl isothiocyanate in black mustard (*Brassica nigra*). *Flavour Industry*, v. 2, p. 591-593, 1971.
- CHUNG, S. K.; OSAWA, T.; KAWAKISHI, S. Hydroxyl radical-scavenging effects of spices and scavengers from brown mustard (*Brassica nigra*). *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, v. 61, n. 1, p. 118-123, 1997.
- CISKA, E.; KOZLOWSKA, H. The effect of cooking on the glucosinolates content in white cabbage. *European Food Research and Technology*, v. 212, n. 5, p. 582-587, 2001.
- CISKA, E.; MARTYNIAK-PRZYBYSZEWSKA, B.; KOZLOWSKA, H. Content of glucosinolates in cruciferous vegetables grown at the same site for two years un-

- der different climatic conditions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 48, n. 7, p. 2862-2867, 2000.
- CONAWAY, C. C.; GETAHUN, S. M.; LIBES, L. L.; PUSATERI, D. J.; TOPHAM, D. K. W.; BOTERO-OMARY, M.; CHUNG, F. L. Disposition of glucosinolates and sulforaphane in humans after ingestion of seamed and fresh broccoli. *Nutrition and Cancer – An International Journal*, v. 38, n. 2, p. 168-178, 2000.
- CORTESI, R.; ESPOSITO, E.; CANTELLI, D.; NASTRUZZI, C. Hydroxy propyl methyl cellulose phthalate (HPMCP) microparticles for enteric delivery of glucosinolate derived products from cruciferous vegetable. *Minerva Biotechnologica*, v. 12, n. 4, p. 293-300, 2000.
- CRUZ-VILLALON, G. Synthesis of allicin and purification by solid-phase extraction. *Analytical Biochemistry*, v. 290, n. 2, p. 376-378, 2001.
- DAS, I.; KHAN, N. S.; SOORANNA, S. R. Potent activation of nitric oxide synthase by garlic: a basis for its therapeutic applications. *Current Medical Research Opinion*, v. 13, n. 5, p. 257-263, 1995.
- DAS, S.; TYAGI, A. K.; KAUR, H. Cancer modulation by glucosinolates: a review. *Current Science*, v. 79, n. 12, p. 1665-1671, 2000.
- DAWSON, G. W.; HICK, A. J.; BENNETT, R. N., *et al.* Synthesis of glucosinolate precursors and investigations into the biosynthesis of phenylalkyl- and methylthioalkyl-glucosinolates. *Journal of Biological Chemistry*, v. 268, n. 36, p. 27154-27159, 1993.
- DHAR, R.; DAWAR, H.; GARG, S. *et al.* Effect of volatiles from neem and other natural products on gonotrophic cycle and oviposition of *Anopheles stephensi* and *A. culicifacies* (Diptera: Culicidae). *Journal of Medical Entomology*, v. 33, n. 2, p. 195-201, 1996.
- DOMÍNGUEZ, J.; CUEVAS, M.; UREÑA, V. *et al.* Purification and characterization of an allergen of mustard seed. *Annals of Allergy*, v. 64, n. 4, p. 352-357, 1990.
- DUNN, S. E.; LE BLANC, G. A. Hypocholesterolemic properties of plant indoles. Inhibition of acyl-CoA: cholesterol acyltransferase activity and reduction of serum LDL/VLDL cholesterol levels by glucobrassicin derivatives. *Biochemical Pharmacology*, v. 47, n. 2, p. 359-364, 1994.
- FAHEY, J. W.; ZALCMANN, A. T.; TALALAY, P. The chemical diversity and distribution of glucosinolates and isothiocyanates among plants. *Phytochemistry*, v. 56, n. 1, p. 5-51, 2001.
- FAHEY, J. W.; ZHANG, Y.; TALALAY, P. Broccoli sprouts: an exceptionally rich source of inducers of enzymes that protect against chemical carcinogens. *Proceedings of the National Academy of Sciences U.S.A.*, v. 94, n. 19, p. 10367-10372, 1997.
- FRANCIS, F.; LOGNAY, G.; WATHELET, J. P.; HAUBURGE, E. Effects of allelochemicals from first (*Brassicaceae*) and second (*Myzus persicae* and *Brevicoryne brassicae*) trophic levels on *Adalia bipunctata*. *Journal of Chemical Ecology*, v. 27, n. 2, p. 243-256, 2001.
- FUGH-BERMAN, A. Herb-drug interactions. *Lancet*, v. 355, n. 9198, p. 134-138, 2000.
- GARDNER, C. D.; CHATTERJEE, L. M.; CARLSON, J. J. The effect of a garlic preparation on plasma lipid levels in moderately hypercholesterolemic adults. *Atherosclerosis*, v. 154, n. 1, p. 213-220, 2001.
- GEBHARDT, R.; BECK, H.; WAGNER, K. G. Inhibition of cholesterol biosynthesis by allicin and ajoene in rat hepatocytes and HepG2 cells. *Biochimica et Biophysica Acta*, v. 1213, n. 1, p. 57-62, 1994.
- GRASBERGER, F. and DRUGDEX Editorial Staff. *Garlic: Drug Evaluation*. Englewood: Micromedex, dec. 1997.

- GRASER, G.; SCHNEIDER, B.; OLDHAM, N. J.; GERSHENZON, J. The methionine chain elongation pathway in the biosynthesis of glucosinolates in *Eruca sativa* (Brassicaceae). *Archives of Biochemistry and Biophysics*, v. 378, n. 2, p. 411-419, 2000.
- GUPTA, N.; PORTER, T. D. Garlic and garlic derived compounds inhibit human squalene monooxygenase. *Journal of Nutrition*, v. 131, n. 6, p. 1662-1667, 2001.
- HARBORNE, J. B. *Phytochemical Methods: a guide to modern techniques of plant analysis*. 2. ed. New York: Chapman and Hall, 1984. Cap. 4, p. 142-169: Organic acids, lipids and related compounds.
- HEANEY, R. K.; FENWICK, G. R. Natural toxins and protective factors in brassica species, including rapeseed. *Natural Toxins*, v. 3, n. 4, p. 233-237, 1995.
- HECHT, S. S. Inhibition of carcinogenesis by isothiocyanates. *Drug Metabolism Reviews*, v. 32, n. 3-4, p. 395-411, 2000.
- HOSHINO, T.; KASHIMOTO, N.; KASUGA, S. Effects of garlic preparations on the gastrointestinal mucosa. *Journal of Nutrition*, v. 131, Suppl. 3, p. 1109S-1113S, 2001.
- HRNCIRIK, K.; VALUSEK, J.; VELISEK, J. Investigation of ascorbigen as a breakdown product of glucobrassicin autoanalysis in *Brassica* vegetables. *European Food Research and Technology*, v. 212, n. 5, p. 576-581, 2001.
- INCZE, I. Titrimetric determination of the p-hydroxybenzyl isothiocyanate (PBH) content of white mustard. *Acta Pharmaceutica Hungarica*, v. 51, p. 186-190, 1981.
- JEN, J. F.; LIN, T. H.; HUANG, J. W.; CHUNG, W. C. Direct determination of sinigrin in mustard seed without desulfatation by reversed-phase ion-pair liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, v. 912, n. 2, p. 363-368, 2001.
- JONKERS, D.; VAN DEN BROEK, E.; VAN DOOREN, I.; THIJIS, C.; DORANT, E.; HAGEMAN, G.; STOBBERINGH, E. Antibacterial effect of garlic and omeprazole on *Helicobacter pylori*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, v. 43, n. 6, p. 837-9, 1999.
- JORRO, G.; MORALES, C.; BRASÓ, J. V. et al. Mustard allergy: three cases of systemic reaction to ingestion of mustard sauce. *Journal of Investigational Allergology and Clinical Immunology*, v. 5, n. 1, p. 54-56, 1995.
- KAYE, A. D.; DE WITT, B. J.; ANWAR, M.; SMITH, D. E.; FENG, C. J.; KADOWITZ, P. J.; NOSSMAN, B. D. Analysis of responses of garlic derivatives in the pulmonary vascular bed of the rat. *Journal of Applied Physiology*, v. 89, n. 1, p. 353-358, 2000.
- KALUS, U.; PINDUR, G.; JUNG, F.; MAYER, B.; RADTKE, H.; BACHMANN, K.; MROWIETZ, C.; KOSCIELNY, J.; KIESEWETTER, H. Influence of the onion as an essential ingredient of the Mediterranean diet on arterial blood pressure and blood fluidity. *Arzneimittel-Forschung / Drug Research*, v. 50, n. 9, p. 795-801, 2000.
- KANG, N. S.; MOON, E. Y.; CHO, C. G.; PYO, S. Immunomodulating effect of garlic component, allicin, on murine peritoneal macrophages. *Nutrition Research*, v. 21, n. 4, p. 617-626, 2001.
- KANNY, G.; FREMONT, S.; TALHOUARNE, G. et al. Anaphylaxis to mustard as a masked allergen in "chicken dips". *Annals of Allergy Asthma and Immunology*, v. 75, n. 4, p. 340-342, 1995.
- KANNAR, D.; WATTANAPENPAIBOON, N.; SAVIGE, G. S.; WAHLQVIST, M. L.

- Hypocholesterolemic effect of an enteric-coated garlic supplement. *Journal of the American Nutrition*, v. 20, n. 3, p. 225-231, 2001.
- KASSIE, F.; KNASMÜLLER, S. Genotoxic effects of allyl isothiocyanate (AITC) and phenethyl isothiocyanate. *Chimico-Biological Interactions*, v. 127, n. 2, p. 163-80, 2000.
- KAVLI, G.; MOSENG, D. Contact urticaria from mustard in fish-stick production. *Contact Dermatitis*, v. 17, n. 3, p. 153-155, 1987.
- KEUSGEN, M. A high-throughput method for the quantitative determination of alliin. *Planta Medica*, v. 64, n. 8, p. 736-740, 1998.
- KEUSGEN, M. TLC analysis of *Allium sativum* constituents. *Planta Medica*, v. 63, n. 1, p. 93-94, 1997.
- KOCH, H. P. Garlic oil maceration products: analytical evaluation of garlic preparations in oily solutions. *Deutsche Apotheker Zeitung*, v. 130, n. 11, p. 2469-2474, 1990.
- KURSA, J.; TRAVNICEK, J.; RAMBECK, W. A.; KROUPOVA, V.; VITOVEC, J. Goitrogenic effects of extracted rapeseed meal and nitrates in sheep and their progeny. *Veterinari Medicina*, v. 45, n. 5, p. 129-140, 2000.
- LAMM, D. L.; RIGGS, D. R. Enhanced immunocompetence by garlic: Role in bladder cancer and other malignancies. *Journal of Nutrition*, v. 131, Suppl. 3, p. 1067S-1070S, 2001.
- LAWSON, L. D. Bioactive organosulfur compounds in garlic and garlic products: role in reducing blood lipids. In: KINGHORN, A. D.; BALANDRIN, M. F. *Human medicinal agents from plants*. Washington: American Chemical Society, 1993. Cap. 21, p. 306-330.
- LAWSON, L. D.; WANG, Z. J. Low allicin release from garlic supplements: a major problem due to the sensitivities of alliinase activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 49, n. 5, p. 2592-2599, 2001.
- LAWSON, L. D.; WANG, Z. J.; PAPADIMITRIOU, D. Allicin release under stimulated gastrointestinal conditions from garlic powder tablets employed in clinical trials on serum cholesterol. *Planta Medica*, v. 67, n. 1, p. 13-18, 2001.
- LEMBO, G.; BALATO, N.; PATRUNO, C. et al. Allergic contact dermatitis due to garlic (*Allium sativum*). *Contact Dermatitis*, v. 25, p. 330-331, 1991.
- LEONI, O.; IORI, R.; PALMIERI, S. Hydrolysis of glucosinolates using nylon-immobilized myrosinase to produce pure bioactive molecules. *Biotechnology and Bioengineering*, v. 68, n. 6, p. 660-4, 2000.
- LIPPE, I. T.; STABENTHEINER, A.; HOLZER, P. Participation of nitric oxide in the mustard oil-induced neurogenic inflammation of the rat paw skin. *European Journal of Pharmacology*, v. 232, n. 1, p. 113-120, 1993.
- LULEY, C.; LEHMANN-LEO, W.; MOELLER, B. et al. Lack of efficacy of dried garlic in patients with hyperlipoproteinemia. *Arzneimittelforschung*, v. 36, p. 766-768, 1986. Apud: GRASBERGER, F. and DRUGDEX Editorial Staff. *Garlic: Drug Evaluation*. Englewood: Micromedex, dec. 1997.
- MADER, F. H. Treatment of hyperlipidemia with garlic-powder tablets: evidence from the German Association of General Practitioner's multicenter placebo-controlled double-blind study. *Arzneimittel Forschung*, v. 40, n. 10, p. 1111-1116, 1990.
- MALET, A.; VALERO, A.; LLUCH, M. et al. Hypersensitivity to mustard seed. *Allergy*, v. 48, n. 1, p. 62-63, 1993.
- MARCONI, M. F.; YADA, R. Y.; AROONKAMONSRI, W.; KAKUDA, Y. Phyco-

- chemical properties of purified isoforms of the 12S seed globulin from mustard seed (*Brassica alba*). *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, v. 61, n. 1, p. 65-74, 1997.
- MATSUURA, H. Saponins in garlic as modifiers of the risk of cardiovascular disease. *Journal of Nutrition*, v. 131, Suppl. 3, p. 1000S-1005S, 2001.
- MATUSHESKI, N. V.; JEFFERY, E. H. Comparison of the bioactivity of two glucoraphanin hydrolysis products found in broccoli, sulforaphane and sulforaphane nitrile. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 49, n. 12, p. 5743-5749, 2001.
- MATUSHESKI, N. V.; WALLIG, M. A.; JUVIK, J. A.; KLEIN, B. P.; KUSHAD, M. M.; JEFFERY, E. H. Preparative HPLC method for purification of sulforaphane and sulforaphane nitrile from *Brassica oleracea*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 49, n. 4, p. 1867-1872, 2001.
- MAWSON, R.; HEANEY, R. K.; ZDUNCZYK, Z. et al. Rapeseed meal-glucosinolates and their antinutritional effects. Part 5. Animal reproduction. *Nahrung*, v. 38, n. 6, p. 588-598, 1994.
- MENÉNDEZ-ARIAS, L.; DOMÍNGUEZ, J.; MONEO, I. et al. Epitope mapping of the major allergen from yellow mustard seeds, Sin a I. *Molecular Immunology*, v. 27, n. 2, p. 143-150, 1990.
- MIRON, T.; RABINKOV, A.; MIRELMAN, D.; WEINER, L.; WILCHEK, M. A spectrophotometric assay for alliinase and alliinase (alliin lyase) activity: reaction of 2-nitro-5 thiobenzoate with thiosulfates. *Analytical Biochemistry*, v. 265, n. 2, p. 317-325, 1998.
- MIRON, T.; RABINKOV, A.; MIRELMAN, D.; WILCHEK, M. A.; WEINER, L. The mode of action of alliinase: its ready permeability through phospholipid membranes may contribute to its biological activity. *Biochimica et Biophysica Acta - Biomembranes*, v. 1463, n. 1, p. 20-30, 2000.
- MITHEN, R. F.; DEKKER, M.; VERKERK, R.; RABOT, S.; JOHNSON, I. T. The nutritional significance, biosynthesis and bioavailability of glucosinolates in human foods. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 80, n. 7, p. 967-984, 2000.
- MOCHIZUKI, E. N.; YAMAMOTO, T.; HORIE, M.; IKAI, Y.; NAKAZAWA, H. Simultaneous determination of alliin and alliinase in *Allium* plants and their products by liquid chromatography. *Journal of AOAC International*, v. 80, n. 5, p. 1052-1056, 1997.
- MOLNAR, B.; BOTZ, L.; SZABO, L. G. Phytochemical assessment of garlic and garlic products by thin layer chromatography (TLC) with densitometric determination of alliin. *Acta Pharmaceutica Hungarica*, v. 61, n. 3, p. 146-152, 1991.
- MONREAL, P.; BOTEY, J.; PENA, M. et al. Mustard allergy. Two anaphylactic reactions to ingestion of mustard sauce. *Annals of Allergy*, v. 69, n. 4, p. 317-320, 1992.
- MOSS, B. R. Mustard meal in dairy rations. *Journal of Dairy Science*, v. 58, n. 11, p. 1682-1687, 1975.
- OLIVIER, C.; VAUGHN, S. F.; MIZUBUTI, E. S. G.; LORIA, R. Variation in allyl isothiocyanate production within *Brassica* species and correlation with fungicidal activity. *Journal of Chemical Ecology*, v. 25, n. 12, p. 2687-2701, 1999.
- NASTRUZZI, C.; CORTESI, R.; ESPOSITO, E.; MENEGATTI, E.; LEONI, O.; IORI, R.; PALMIERI, S. In vitro antiproliferative activity of isothiocyanates and nitriles generated by myrosinase-mediated hydrolysis of glucosinolates from seeds

- of cruciferous vegetables. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 48, n. 8, p. 3572-3575, 2000.
- O'GARA, E. A.; HILL, D. J.; MASLIN, D. J. Activities of garlic oil, garlic powder, and their diallyl constituents against *Helicobacter pylori*. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 66, n. 5, p. 2269-2273, 2000.
- OPALKA, M.; DUSZA, L.; KOZIOROWSKI, M.; STASZKIEWICZ, J.; LIPINSKI, K.; TYWONCZUK, J. Effect of long-term feeding with graded levels of low glucosinolate rapeseed meal on endocrine status of gilts and their piglets. *Livestock Production Science*, v. 69, n. 3, p. 233-243, 2001.
- POTTER, J. D.; STEINMETZ, K. Vegetables, fruit and phytoestrogens as preventive agents. *IARC Sci. Publ.*, n.139, p. 61-90, 1996.
- PREOBRAZHENSKAYA, M. N.; BUKHMAN, V. M., KOROLEV, A. M. et al. Ascorbigen and other indole-derived compounds from *Brassica* vegetables and their analogs as anticarcinogenic and immunomodulating agents. *Pharmacology and Therapeutics*, v. 60, n. 2, p. 301-313, 1993.
- PRESTERA, T.; FAHEY, J. W.; ABEYGUNAWARDANA, C. et al. Comprehensive chromatographic and spectroscopic methods for the separation and identification of intact glucosinolates. *Analytical Biochemistry*, v. 239, n. 2, p. 168-179, 1996.
- RABINKOV, A.; MIRON, T.; MIRELMAN, D.; WILCHEK, M.; GLOZMAN, S.; YAVIN, E.; WEINER, L. S-Allylmercaptogluthione: the reaction product of allicin with glutathione possesses SH-modifying and antioxidant properties. *Biochimica et Biophysica Acta -Molecular Cell Research*, v. 1499, n. 1-2, p. 144-153, 2000.
- RANCE, F.; DUTAU, G. Labial food challenge in children with food allergy. *Pediatric Allergy and Immunology*, v. 8, n. 1, p. 41-44, 1997.
- REUTER, H. D. Knoblauch: lassen sich die Risikofaktoren der Arteriosklerose beeinflussen? In: *PTA Heute: Deutsche Apotheker Zeitung*, v. 4, n. 9, p. 416-424, 1990.
- ROBBERS, J. E.; SPEEDIE, M. K. TYLER, V. E. *Pharmacognosy and Pharmacobiotechnology*. Baltimore: Williams & Wilkins, 1996. 337 p.
- ROSA, E. A. S.; RODRIGUES, A. S. Total and individual glucosinolate content in 11 broccoli cultivars grown in early and late seasons. *Hortscience*, v. 36, n. 1, p. 56-59, 2001.
- ROSEN, R. T.; HISERODT, R. D.; FUKUDA, E. K.; RUIZ, R. J.; ZHOU, Z. Y.; LECH, J.; ROSEN, S. L.; HARTMAN, T. G. Determination of allicin, S-allylcysteine and volatile metabolites of garlic in breath, plasma or simulated gastric fluids. *Journal of Nutrition*, v. 131, suppl. 3, 968S-971S, 2001.
- SAMUEL, J. K.; ANDREWS, B.; JEBASHREE, H. S. *In vitro* evaluation of the antifungal activity of *Allium sativum* bulb extract against *Trichophyton rubrum*, a human kin pathogen. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, v. 16, n. 7, p. 617-620, 2000.
- SHIRIN, H.; PINTO, J. T.; KAWABATA, Y.; SOH, J. W.; DELOHERY, T.; MOSS, S. F.; MURTY, V.; RIVLIN, R. S.; HOLT, P. R.; WEINSTEIN, I. B. Antiproliferative effects of S-allylmercaptocysteine on colon cancer cells when tested alone or in combination with sulindac sulfide. *Cancer Research*, v. 61, n. 2, p. 725-731, 2001.
- SIEGERS, C. P.; ROBKE, A.; PENTZ, R. The effects of garlic preparations on superoxide production by phorbol ester activated granulocytes. *Phytomedicine*, v. 6, n. 1, p. 13-16, 1999.
- SCHÖNE, F. Testing of rapeseed with different glucosinolate contents in growing

- swine - a contribution for the evaluation of native harmful substances in food. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift*, v. 100, n. 3, p. 94-99, 1993.
- SCHULZ, H.; KRUGER, H.; LIEBMANN, J.; PETERKA, H. Distribution of volatile sulfur compounds in an interspecific hybrid between onion (*Allium cepa* L.) and leek (*Allium porrum* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 46, n. 12, p. 5220-5224, 1998.
- SHANKARANARAYANA, M. L.; NAGALAKSHMI, S.; RAGHAVAN, B. et al. Oxidimetric method of determination of allyl isothiocyanate in black mustard (*Brassica nigra* L.) with chloramine-T. *Flavour Industry*, v. 3, p. 75-77, 1972.
- SHAPIRO, T. A.; FAHEY, J. W.; WADE, K. L.; STEPHENSON, K. K.; TALALAY, P. Chemoprotective glucosinolates and isothiocyanates of broccoli sprouts: metabolism and excretion in humans. *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention*, v. 10, n. 5, p. 501-508, 2001.
- SHARPE, G. L.; LARSSON, K. S.; LIEDÉN, S. A. Toxicological and teratogenic studies of a rapeseed protein diet in rats and mice. *Nutrition and Metabolism*, v. 18, n. 5/6, p. 245-257, 1975.
- SHEEN, L. Y.; LIU, C. K.; SHEU, S. F. et al. Effect of the active principle of garlic - diallylsulfide - on cell viability, detoxification, capability and the antioxidation system of primary rat hepatocytes. *Food and Chemical Toxicology*, n. 34, p. 971-978, 1996.
- SHIN, Y. G.; MATSUURA, H. Determination of alliin in rat plasma by liquid chromatography - electrospray ionization mass spectrometry. *Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies*, v. 23, n. 9, p. 1331-1338, 2000.
- SIEGERS, C. P. Toxicologische Bewertung von Knoblauch und Knoblauchinhaltsstoffen. *Deutsche Apotheker Zeitung*, v. 28, n. 15, p. 11-13, 1989.
- SILAGY, C.; NEIL, A. Garlic as a lipid lowering agent - a meta analysis. *Journal of the Royal College of Physicians of London*, v. 28, p. 39-45, 1994.
- SIVAM, G. P. Protection against *Helicobacter pylori* and other bacterial infections by garlic. *Journal of Nutrition*, v. 131, Suppl. 3, 1106S-1108S, 2001.
- STAHL, E.; SCHILD, W. *Pharmazeutische Biologie*. Stuttgart: Gustav Fischer, 1981. v. 4: Drogenanalyse II: Inhaltsstoffe und Isolierung. 461 p.
- STEVINSON, C.; PITTLER, M. H.; ERNST, E. Garlic for treating hypercholesterolemia - A meta-analysis of randomized clinical trials. *Annals of Internal Medicine*, v. 133, n. 6, p. 420-429, 2000.
- STICHER, O. Evaluation of garlic preparations. *Deutsche Apotheker Zeitung*, v. 131, n. 10, p. 403-413, 1991.
- STOEWSAND, G. S. Bioactive organosulfur phytochemicals in *Brassica oleracea* vegetables - a review. *Food and Chemical Toxicology*, v. 33, n. 6, p. 537-43, 1995.
- TROYER, J. K.; STEPHENSON, K. K.; FAHEY, J. W. Analysis of glucosinolates from broccoli and other cruciferous vegetables by hydrophilic interaction liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, v. 919, n. 2, p. 299-304, 2001.
- VANG, O.; FRANDSEN, H.; HANSEN, K. T.; SORENSSEN, J. N.; SORENSSEN, H.; ANDERSEN, O. Biochemical effects of dietary intakes of different broccoli samples. I. Differential modulation of cytochrome P-450 activities in rat liver, kidney, and colon. *Metabolism - Clinical and Experimental*, v. 50, n. 10, p. 1123-1129, 2001.
- VANNIEREAU, A.; MELLOUKI, F. A review of biological activities of sulfur compounds in *Allium* species involved in phytotherapy. *Acta Botanica Gallica*, v. 143, n. 2-3, p. 143-148, 1996.

- VAUGHN, S. F.; BOYDSTON, R. A. Volatile allelochemicals released by crucifer green manures. *Journal of Chemical Ecology*, v. 23, n. 9, p. 2107-2116, 1997.
- VERKERK, R.; DEKKER, M.; JONGEN, W. M. F. Post-harvest increase of indolyl glucosinolates in response to chopping and storage of *Brassica* vegetables. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 81, n. 9, p. 953-958, 2001.
- VERHOEVEN, D. T.; VERHAGEN, H.; GOLDBOHN, R. A. *et al.* A review of mechanisms underlying anticarcinogenicity by *Brassica* vegetables. *Chemico-Biological Interactions*, v. 103, n. 2, p. 79-129, 1997.
- WAGNER, H. *Pharmazeutische Biologie*. 5. Aufl. Stuttgart: Gustav Fischer, 1993. v. 2: Drogen und ihre Inhaltsstoffe.
- WATTENBERG, L. W.; HANLEY, A. B.; BARANY, G. V. *et al.* Inhibition of carcinogenesis by some minor dietary constituents. *Princess Takamatsu Symposium*, v. 16, p. 193-203, 1985.
- WIDSRÖM, L.; JOHANSSON, S. G. IgE-mediated anaphylaxis to mustard. *Acta Dermato-Venereologica*, v. 66, n. 1, p. 70-71, 1986.
- XU, K.; THORALLEY, P. J. Involvement of glutathione metabolism in the cytotoxicity of the phenethyl isothiocyanate and its cysteine conjugate to human leukemia cells *in vitro*. *Biochemical Pharmacology*, v. 61, n. 2, p. 165-177, 2001.
- YANG, C. S.; CHHABRA, S. K.; HONG, J. Y.; SMITH, T. J. Mechanisms of inhibition of chemical toxicity and carcinogenesis by diallyl sulfide (DAS) and related compounds from garlic. *Journal of Nutrition*, v. 131, Suppl. 3, 1041S-1045S, 2001.
- YEH, Y. Y.; LIU, L. J. Cholesterol effect of garlic extracts and organosulfur compounds: human and animal studies. *Journal of Nutrition*, v. 131, Suppl. 3, p. 989S-993S, 2001.
- ZHANG, Y.; CHO, C. G.; POSNER, G. H. *et al.* Spectroscopic quantification of organic isothiocyanates by cyclocondensation with vicinal dithiols. *Annals of Biochemistry*, v. 205, n. 1, p. 100-107, 1992.

12. SUGESTÕES PARA LEITURA

- DAS, S.; TYAGI, A. K.; KAUR, H. Cancer modulation by glucosinolates: a review. *Current Science*, v. 79, n. 12, p. 1665-1671, 2000.
- FLEISCHAUER, A. T.; ARAB, L. Garlic and cancer: a critical review of the epidemiologic literature. *Journal of Nutrition*, v. 131, Suppl. 3, p. 1032S-1040S, 2001.
- GOMEZ, L. J. G.; SANCHEZ-MUNIZ, F. J. Review: Cardiovascular effect of garlic (*Allium sativum*). *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, v. 50, n. 3, p. 219-229, 2000.
- LAWSON, L. D. Bioactive organosulfur compounds in garlic and garlic products: role in reducing blood lipids. In: KINGHORN, A. D.; BALANDRIN, M. F. (ed.) *Human medicinal agents from plants*. Washington: American Chemical Society, 1993. Cap. 21, p. 306-330.
- STOEWSAND, G. S. Bioactive organosulfur phytochemicals in *Brassica oleracea* vegetables—a review. *Food and Chemical Toxicology*, v. 33, n. 6, p. 537-543, 1995.
- ZHANG, Y.; TALALAY, P. Anticarcinogenic activities of organic isothiocyanates: chemistry and mechanisms. *Cancer Research*, v. 54, Suppl. 7, 1976s-1981s, 1994.

ALCALÓIDES: GENERALIDADES E ASPECTOS BÁSICOS

AUTORES

Amélia Teresinha Henriques
Renata P. Limberger
Vitor Alberto Kerber
Paulo Roberto Hirshowitzsch Moreno

SUMÁRIO DO CAPÍTULO

1. Definição
2. Histórico
3. Localização nos vegetais
4. Funções nos vegetais
5. Ocorrência e distribuição
6. Origem: biossintética e classificação
7. Detecção e caracterização
8. Extração e isolamento
9. Análise quantitativa
10. Atividades biológicas e emprego farmacêutico
11. Referências bibliográficas
12. Sugestões para leitura

1. DEFINIÇÃO

Alcalóides (termo lingüística-mente derivado da palavra árabe *al-quali*, denominação vulgar da planta da qual a soda foi originalmente obtida) são compostos nitrogenados farmacologicamente ativos e são encontrados predominantemente nas angiospermas. Na sua grande maioria, possuem caráter alcalino, com exceções tais como colchicina, piperina, oximas e alguns sais quaternários como o cloridrato de laurifolina (Kutchan, 1995; Evans, 1996). Uma definição para essa classe de substâncias apresenta certas dificuldades devido à ausência de uma separação precisa entre alcalóides propriamente ditos e aminas complexas de ocorrência natural. Para contornar esses problemas, Pelletier (1988) formulou a seguinte definição: *Um alcalóide seria uma substância orgânica, de origem natural, cíclica, contendo um nitrogênio em um estado de oxidação negativo e cuja distribuição é limitada entre os organismos vivos.* Essa definição englobaria todos os compostos que foram considerados até o momento como alcalóides, mas excluiria compostos nitrogenados tais como: aminas simples, aminoácidos, peptídeos, proteínas, ácidos nucleicos, nucleotídeos, porfirinas, vitaminas e compostos nitro e nitroso. Outras definições foram cunhadas por diferentes pesquisadores (Hesse, 1978; Ikan, 1991; Bruneton, 1993; Waterman, 1998), contudo até o momento nenhuma se apresentou completamente abrangente.

Os alcalóides contendo um átomo de nitrogênio em um anel heterocíclico são chamados de alcalóides verdadeiros e são classificados de acordo com o sistema anelar presente na molécula. As substâncias com o átomo de nitrogênio não-pertencente a um sistema heterocíclico são denominadas de protoalcalóides. Compostos nitrogenados com e sem anéis heterocíclicos que não são derivados de aminoácidos são chamados de pseudoalcalóides.

Muitos deles são opticamente ativos. Frequentemente, nas plantas, formam sais com ácidos tais como ácido quínico ou mecônico. Alguns estão presentes em combinação com açúcares, como a solanina, e outros ocorrem como ésteres ou amidas, como o paclitaxel.

2. HISTÓRICO

Os alcalóides constituem-se num vasto grupo de metabólitos com grande diversidade estrutural, comparável àquela dos terpenóides, representando cerca de 20% das substâncias naturais descritas. Esse grupo químico tem apresentado um grande impacto através dos tempos na economia, medicina e em outros setores sociais e políticos. O uso de extratos vegetais contendo alcalóides como medicamentos, venenos e em poções mágicas, pode ser traçado desde os primórdios da civilização. Como exemplo desses usos, pode ser citado o emprego de certas plantas contendo alcalóides em execuções na Grécia antiga, como no caso do filósofo Sócrates, executado pela ingestão de uma bebida preparada à base de cicuta contendo o alcalóide conina. Durante o Império Romano, Livia, esposa do Imperador Augusto, eliminava seus inimigos e adversários políticos assassinando-os em banquetes com o uso secreto de beladona, fonte do alcalóide atropina, adicionada aos alimentos. Os índios da bacia Amazônica utilizam o extrato seco da planta conhecida como curare, contendo o alcalóide tubocurarina, para preparar dardos e flechas envenenados a serem empregados na caça e nas guerras. Em diversos grupos étnicos, os feiticeiros detêm o poder utilizando beberagens contendo alcalóides alucinógenos (Robbers et al., 1996) (ver capítulo "Plantas alucinógenas").

Devido ao elevado número de atividades biológicas atribuídas aos alcalóides, estes foram continuamente objetos de estudos. A descrição do "sal de ópio" por Derosne em 1803 e os trabalhos de Sertürner em 1805 sobre o *principium somniferum* constituíram-se nos trabalhos pioneiros na busca da utilização de drogas naturais sob forma pura. A identificação da estrutura da morfina foi realizada somente em 1923 por Robinson e Gulland. Datam também do século dezanove a identificação da quinina por Pelletier e Caventou em 1820. Esses pesquisadores foram também responsáveis pelo isolamento da estricnina a partir de *Strychnos nux-vomica* L. Na mesma época, Joseph Pelletier também descreveu o isolamento da emetina, princípio ativo da ipeca, amplamente utilizada no tratamento de disenterias. O isolamento da escopol-

mina de *Datura stramonium* L. por Landenburg em 1881 e da papaverina por G. Merck em 1848 e a sua utilização por suas propriedades antiespasmódicas são igualmente exemplos da importância desse grupo de substâncias. Muitos outros alcalóides foram e continuam sendo descritos e seu uso introduzido na terapêutica, como, por exemplo, os alcalóides antitumorais isolados de *Ca-tharanthus roseus* (L.) G. Don (Evans, 1996).

3. LOCALIZAÇÃO NOS VEGETAIS

Os alcalóides podem ser encontrados em todas as partes de um vegetal, contudo em um ou mais órgãos haverá um acúmulo preferencial dessas substâncias. Esse acúmulo ocorre principalmente em quatro tipos de tecidos ou células: (i) tecidos com crescimento ativo; (ii) células epidérmicas e hipodérmicas; (iii) bainhas vasculares e (iv) vasos lactíferos. Raramente estão presentes em tecidos mortos; mesmo em cascas de *Cinchona*, as quais podem conter até 12% (m/m) de alcalóides, estes são encontrados apenas no parênquima (Pelletier, 1988; Goodwin e Mercer, 1990; Evans, 1996).

Com relação à sua localização intracelular, os alcalóides são sintetizados no retículo endoplasmático, concentrando-se, em seguida, nos vacúolos e, dessa maneira, não aparecem em células jovens antes de ocorrer a formação dessas estruturas.

O local de estoque dos alcalóides frequentemente é diferente daquele no qual esses são sintetizados. O exemplo mais conhecido é o da nicotina, que é formada nas raízes das plantas de tabaco, mas é translocada para as folhas nas quais é armazenada. Atualmente, existe evidência de que uma pequena quantidade desses alcalóides seria sintetizada nos ramos. Uma situação inversa foi observada para os alcalóides do tipo lupina, os quais são sintetizados nos ramos do vegetal e posteriormente transportados para as raízes. Após o transporte para os sítios de armazenagem, podem haver modificações estruturais secundárias, como, por exemplo, a síntese do sistema anelar básico dos alcalóides tropanicos, que ocorre nas raízes de espécies de *Datura*, sendo transportados para as folhas onde sofre modificações consideráveis (Samuelsson, 1992).

4. FUNÇÕES NOS VEGETAIS

Atualmente, a função natural de muitos metabólitos secundários tem sido reavaliada, reconhecendo-se que estes são, de fato, essenciais para a existência dos vegetais. Tem sido observado que muitas plantas que produzem alcalóides são evitadas por animais ou insetos em sua dieta, isto certamente devido à sua toxicidade ou ao fato de a maioria dos alcalóides ter gosto amargo. Porém não se pode afirmar que as plantas produzam tais substâncias apenas para sua proteção, pois se esse fosse o caso, plantas que não produzissem al-

calóides teriam sido extintas, causando uma predominância daquelas produzindo esses compostos. Outras hipóteses têm sido levantadas, como, por exemplo, de que os alcalóides seriam produtos de detoxificação de substâncias nocivas geradas pelo metabolismo primário vegetal. Contudo, essa hipótese não é compatível com a complexidade metabólica envolvida na biossíntese dessas substâncias. Outras hipóteses sugerem que tais substâncias funcionariam como uma forma de reserva de nitrogênio, embora existam poucas evidências nesse sentido. Também foi sugerido que os alcalóides poderiam atuar como hormônios reguladores de crescimento, muito provavelmente inibidores de germinação, devido ao seu poder quelante e/ou citotóxico. Essas substâncias poderiam, também, auxiliar na manutenção do equilíbrio iônico devido ao seu caráter alcalino. Assim como outros metabólitos secundários, os alcalóides também possuem um comprovado papel na defesa contra a invasão de microorganismos e vírus (Wink, 1993). Essa função pode ser exemplificada pelo aumento da concentração de solanina em batatas quando essas estão sendo atacadas por microorganismos. Também como exemplo dessa função pode-se citar a produção de sanguinarina, um alcalóide com elevada atividade antimicrobiana, em culturas celulares de *Eschscholzia californica* Cham. após o tratamento com filtrados derivados de fungos. Uma outra possível função dessas substâncias seria a proteção contra a irradiação UV, devido ao fato de, em sua maior parte, serem compostos com núcleos aromáticos altamente absorventes dessa radiação (Samuelsson, 1992).

Os alcalóides poderiam também ser considerados como produtos de uma experimentação metabólica, os quais refletiriam os estágios evolutivos intermediários agora atingidos. A formação dessas substâncias pode ser melhor vista como uma ação metabólica envolvendo seqüências de reações longas e/ou curtas, as quais seriam iniciadas por substâncias comuns e essenciais para o metabolismo vegetal, terminando com produtos os quais – não necessariamente – serviriam a esse propósito. Devido a tal processo ser geneticamente controlado, uma espécie produtora de alcalóides é meramente uma planta na qual essas reações adicionais evoluíram através de mutações de um ou mais genes. Dessa maneira, não necessariamente teriam uma função definida no metabolismo vegetal (Robbers et al., 1996).

5. OCORRÊNCIA E DISTRIBUIÇÃO

Embora o primeiro alcalóide conhecido tenha sido isolado de humanos (fosfato de espermina, em 1678 por van Leeuwenhoek), a fonte mais reconhecida de alcalóides são os vegetais superiores, microorganismos e animais marinhos. Em microorganismos, o exemplo mais conhecido é o dos alcalóides do ergô, isolados do fungo *Claviceps purpurea*, popularmente denominado de esporão-do-centeio. Como exemplo em animais marinhos, cita-se o alcalóide

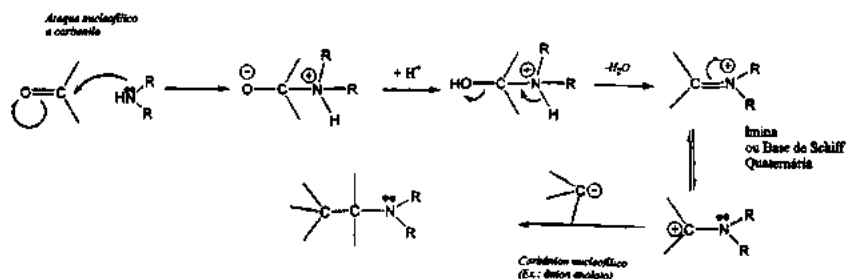
aminoacridínico dercitina, citotóxico, isolado de uma esponja do gênero *Dercitus* (Carté, 1996) (ver capítulo “Productos naturales de origen marina”).

Os alcalóides são encontrados em aproximadamente 14,2% dos gêneros de plantas superiores (Cordell et al., 2001), em representantes de todos os grupos vegetais, apresentando distribuição restrita nas talófitas, nas pteridófitas e nas gimnospermas. Sua maior ocorrência é verificada nas angiospermas.

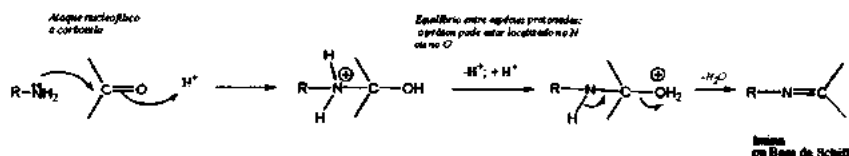
A repartição por grupos estruturais é diversificada, nem sempre de acordo com padrões quimiotaxonômicos, podendo, em alguns casos, caracterizar um único gênero, como, por exemplo, os alcalóides do acônito. Em alguns casos, como os alcalóides indolmonoterpênicos, encontrados em Apocynaceae, Rubiaceae e Loganiaceae, sua ocorrência pode ser utilizada como critério para caracterizar a proximidade dessas famílias em Asteridae (Southon e Buckingham, 1989).

6. ORIGEM BIOSINTÉTICA E CLASSIFICAÇÃO

A biossíntese dos alcalóides vem sendo extensivamente estudada e, atualmente, pode-se traçar um esquema para a rota biossintética de vários deles. Contudo, essas rotas metabólicas não foram ainda completamente delineadas em termos bioquímicos, pois muitas das enzimas envolvidas nas diversas etapas não foram ainda isoladas e caracterizadas. Normalmente, a formação do sistema heterocíclico dos alcalóides ocorre através de reações inter- ou intramoleculares, através de dois mecanismos gerais: reações do tipo Mannich (esquema 1) e formação de bases de Schiff (esquema 2) (Dewick, 1997).



Esquema 1. Reação de Mannich



Esquema 2. Formação de bases de Schiff

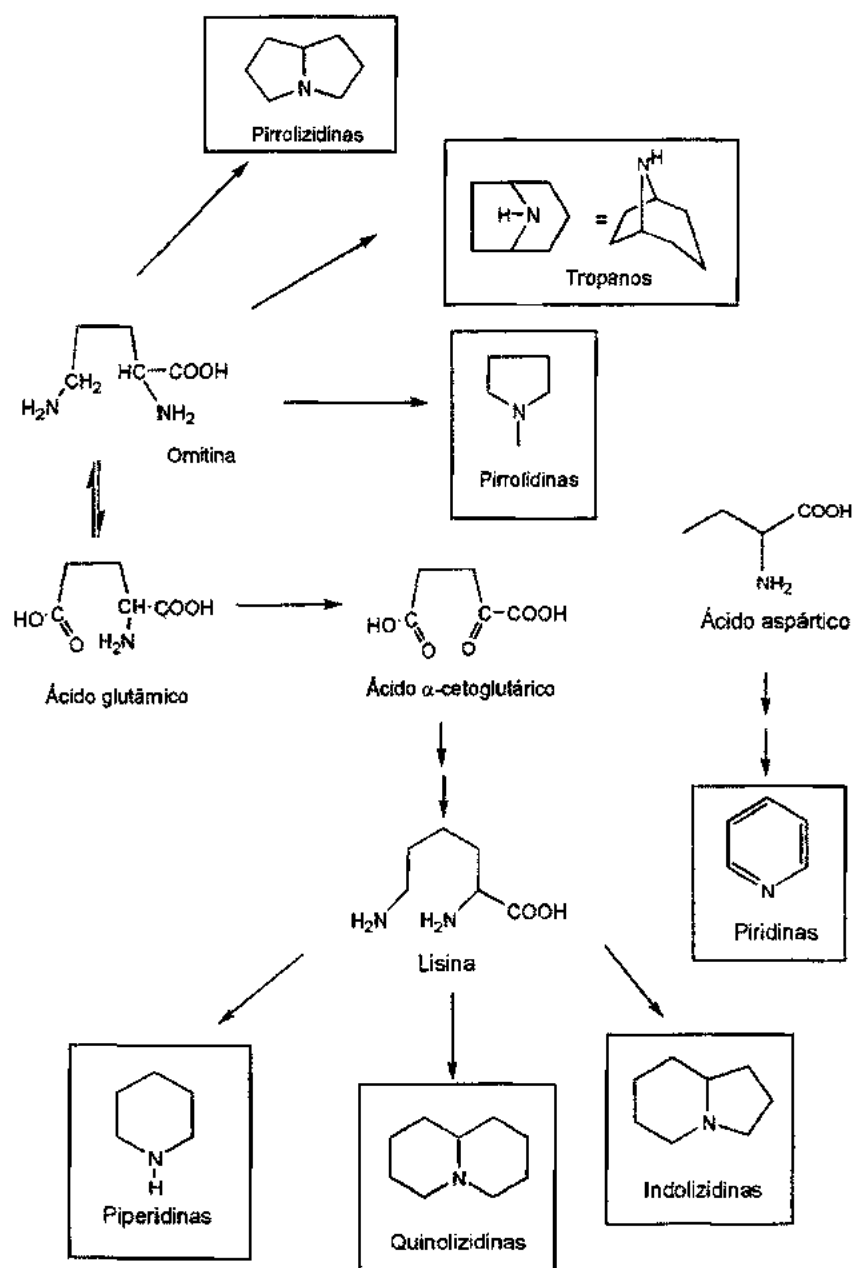


Figura 1. Classes de alcalóides derivadas de aminoácidos alifáticos (lisina, ornitina e ácido aspártico).

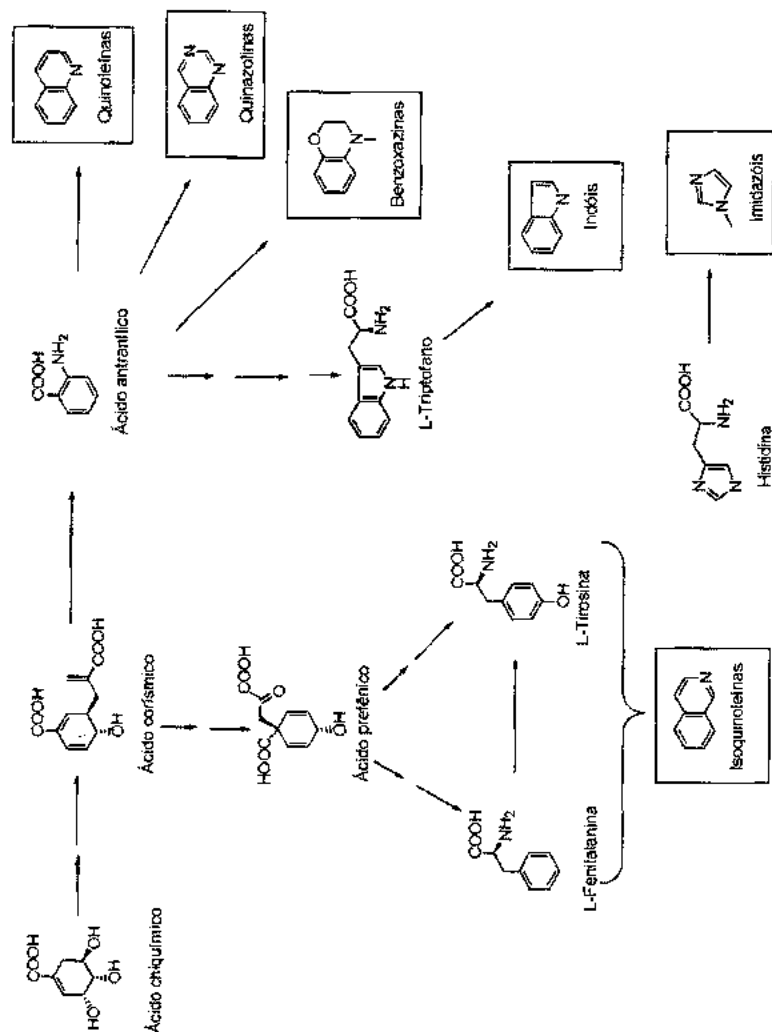


Figura 2. Classes de alcalóides derivados de aminoácidos aromáticos (fenilalanina, tirosina e histidina) e do ácido antrânico.

De uma maneira geral, o átomo de nitrogênio presente nos alcalóides é oriundo dos aminoácidos (alcalóides verdadeiros e protoalcalóides) e o anel heterocíclico formado fornece a base para sua classificação química. Os aminoácidos protéicos comumente utilizados na biossíntese dos alcalóides são: ácido L-aspartico (piridinas, isoquinoleínas), L-lisina (piperidinas, quinolizidinas), L-tirosina (isoquinolinas, benzilisoquinolinas, betalaínas), L-triptofano (derivados da triptamina, β -carbólicos, indóis complexos) e L-histidina (imidazóis). O aminoácido não-protéico L-ornitina dá origem aos alcalóides com núcleo pirrolidínico, pirrolizidínico e tropânico (Luckner, 1990; Mann, 1994). O aminoácido L-fenilalanina não dá origem a muitos alcalóides, contudo é normalmente a origem de anéis aromáticos em alcalóides complexos e pode também contribuir como fonte de grupamento alfa-amino em muitas estruturas (Haslam, 1993).

Por outro lado, as xantinas, como a cafeína e teobromina, derivam das bases púricas cuja origem biossintética envolve os aminoácidos glicina, ácido L-aspartico e L-glutamina. O ácido antranílico, um intermediário na biossíntese do L-triptofano, pode dar origem a uma série de alcalóides contendo núcleos quinolinícos, quinazolinícos e acridonas, e ao protoalcalóide damascenina encontrado em espécies de *Nigella*. O núcleo básico desse grupo de metabólitos é formado pela condensação do ácido antranílico com uma unidade de acetato. Algumas substâncias, como as acridonas têm seu segundo núcleo formado a partir da condensação com 3 unidades de acetato. Já as quinazolininas derivam da reação do ácido antranílico com outros aminoácidos, como fenilalanina e ornitina. Esse precursor dá, ainda, origem a uma série de ácidos hidroxâmicos cíclicos, provavelmente envolvidos no sistema de defesa em gramíneas, demonstrando que o aminoácido L-triptofano pode não ser a única fonte para a biossíntese de núcleos indólicos nos vegetais (Frey et al., 1997).

Adicionalmente, uma série de alcalóides não usuais é derivada da condensação de diversos aminoácidos, formando um grupo denominado alcalóides macrociclopeptídicos. Esse grupo é formado por estruturas cíclicas contendo uma alça com 10 a 12 peptídeos ligados às posições 1,3 ou 1,4 de um anel aromático. Vários compostos dessa classe apresentaram atividade antineoplásica e foram encontrados nas famílias Celastraceae, Pandacaceae, Rhamnaceae, Sterculiaceae, entre outras (Itokawa et al., 1997).

Além dos aminoácidos, outros precursores tais como terpenos ou esteróides podem ser também incorporados na construção do esqueleto final dos alcalóides (pseudoalcalóides). A formação desses pseudoalcalóides ocorre pela transaminação de um esqueleto isoprenóide, podendo este ser um mono-, sesqui-, di- ou triterpeno ou ainda de origem esteroidal. A biossíntese desse grupo de alcalóides não foi ainda estudada em detalhe. Somente dois pontos gerais de sua biossíntese são geralmente aceitos: (i) o esqueleto terpenóide teria sua origem no ácido mevalônico e (ii) os grupamentos *O*- e *N*- metilas, quan-

Tabela 1
Exemplos das diferentes classes de alcalóides
de acordo com o precursor biogenético

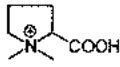
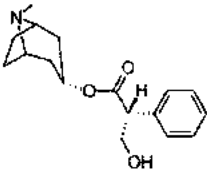
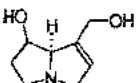
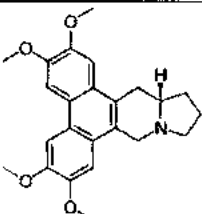
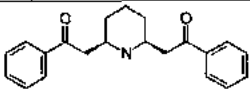
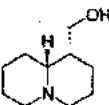
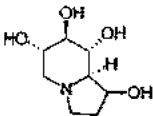
Precursor biogenético	Classe	Exemplo	Origem
L-ornitina	Pirrolidínicos	 estaquidrina	<i>Medicago sativa</i> L.
	Tropânicos	 atropina	<i>Atropa belladonna</i> L.
	Pirrolizidínicos	 retronecina	<i>Senecio</i> spp.
	Fenantroindolizidínicos	 tiloforina	<i>Tylophora asthmatica</i> (L.f.) Wight et Arn.
L-lisina	Pipendínicos	 lobelamina	<i>Lobelia inflata</i> L.
	Quinolizidínicos	 lupinina	<i>Lupinus luteus</i> L.
	Indolizidínicos	 castanospermina	<i>Castanospermum australe</i> Hook.

Tabela 1 (cont.)

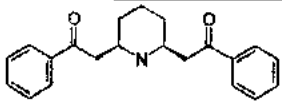
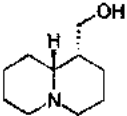
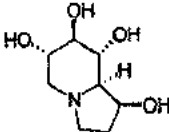
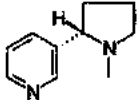
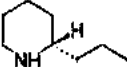
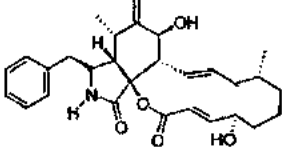
Precursor biogénico	Classe	Exemplo	Origem
L-lisina	Piperidínicos	 lobelanina	<i>Lobelia inflata</i> L.
	Quinolizidínicos	 lupinina	<i>Lupinus luteus</i> L.
	Indolizidínicos	 castanospermina	<i>Castanospermum australe</i> Hook.
Ácido nicotínico	Piridínicos	 nicotina	<i>Nicotiana</i> spp.
Policetídeos	Piperidínicos	 coniina	<i>Conium maculatum</i> L.
	Lactamas policetílicas	 citocalasina B	<i>Helminthosporium dermatioideum</i>

Tabela 1 (cont.)

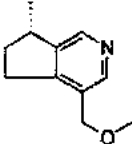
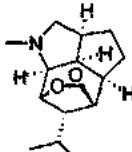
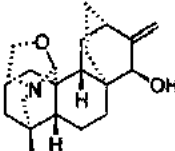
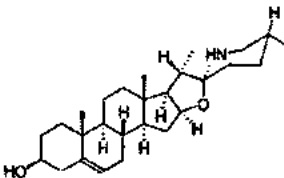
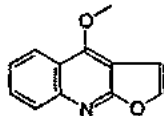
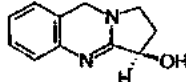
Precursor biogenético	Classe	Exemplo	Origem
Isopreno	monoterpénico	 valerianina	<i>Valeriana officinalis</i> L.
	sesquiterpénico	 dendrobina	<i>Dendrobium nobile</i> Lindl.
	diterpénico	 atisina	<i>Aconitum</i> spp.
Isopreno	triterpénico	 solasodina	<i>Solanum</i> spp.
Ácido antranílico	Quinolinicos	 dictamina	<i>Dictamnus albus</i> L.
	Quinazolinicos	 peganina (vasicina)	<i>Peganum harmala</i> L.

Tabela I (cont.)

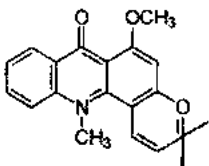
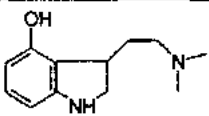
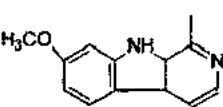
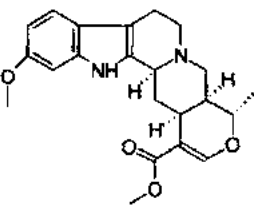
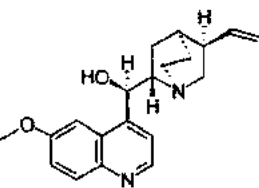
Precursor biogénico	Classe	Exemplo	Origem
Ácido antranílico	Acridínicos	 acronicina	<i>Acronychia baueri</i> Schott
L-tryptofano	Indóis simples	 psilocina	<i>Psilocybe mexicana</i>
	β -carbolinas	 harmina	<i>Peganum harmala</i> L.
	Indol-monoterpénicos	 reserpina	<i>Rauvolfia</i> spp.
	Quinolínicos	 quinina	<i>Cinchona</i> spp.

Tabela 1 (cont.)

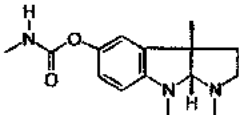
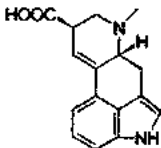
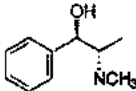
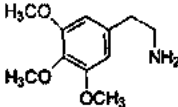
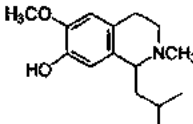
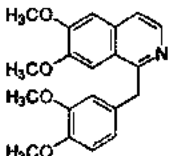
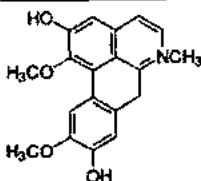
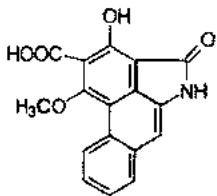
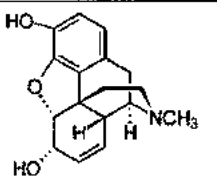
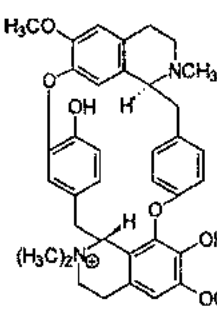
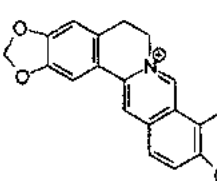
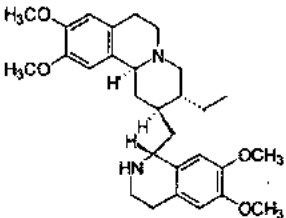
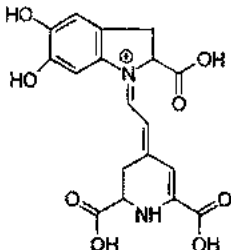
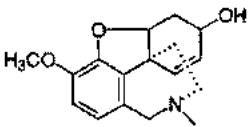
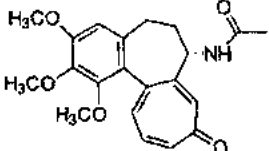
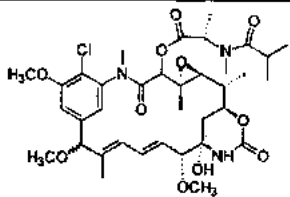
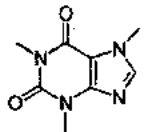
Precursor biogénico	Classe	Exemplo	Origem
L-triptofano	Pirrolizidínicos	 fisostigmina	<i>Physostigma venenosum</i> Balf.
	Ergolíneas	 ácido (+)-lisérgico	<i>Claviceps purpurea</i>
L-fenilalanina	Feniletilaminas	 (-)-efedrina	<i>Ephedra</i> spp.
L-tirosina	Feniletilaminas	 mescalina	<i>Lophophora williamsii</i> (Salma-Dyck) J.M. Coult.
	Tetraidroisoquinolínicos	 (R/S)-lofocgerina	<i>Lophophora</i> spp.
	Benzilisoquinolínicos (2 unidades de tirosina)	 papaverina	<i>Papaver somniferum</i> L.
	Aporfínicos	 boldina	<i>Peumus boldus</i> Molina

Tabela I (cont.)

Precursor biogénico	Classe	Exemplo	Origem
L-tirosina	Aristolactamas	 aristolactama	<i>Aristolochia argentina</i> Griseb.
	Morfinanos	 morfina	<i>Papaver somniferum</i> L.
	Bisbenzilisoquinóicos	 tubocurarina	<i>Chondrodendron tomentosum</i> Ruiz et Pav.
	Protoberberinas	 berberina	<i>Berberis</i> spp.

Precursor biogenético	Classe	Exemplo	Origem
L-tirosina	Isoquinoleínicos-monoterpênicos	 emetina	<i>Psychotria ipecacuanha</i> (Brot.) Stokes
	Betalainas	 betanidina	<i>Beta vulgaris</i> L.
	Benzilisoquinolinas (1 unidade tirosina e 1 unidade fenilalanina)	 galantamina	<i>Amaryllis</i> spp.
L-tirosina	Fenetilisoquinolinas	 colchicina	<i>Colchicum autumnale</i> L.
L-histidina	Imidazólicos	 pilocarpina	<i>Pilocarpus</i> spp.

Precursor biogenético	Classe	Exemplo	Origem
Vários aminoácidos	Ciclopeptídicos	 trevianina (maitensinóide)	<i>Trewia nudiflora</i> L.
Purinas	Xantinas	 cafeína	<i>Coffea arabica</i> L.

do presentes, derivam da *S*-adenosilmetionina (Dewick, 1997). Existem poucas informações a respeito da fonte de nitrogênio nos alcalóides terpênicos. Atualmente, a origem exclusiva do esqueleto terpênico a partir do ácido mevalônico tem sido questionada. Muitas evidências surgiram de que vários isoprenóides podem ser formados através de uma rota biossintética alternativa envolvendo o ácido pirúvico/gliceraldeído-3-fosfato (Schwender et al., 1996).

Assim, a origem biogenética dos alcalóides não pode ser acomodada em apenas uma rota metabólica, freqüentemente resultando da combinação de produtos derivados de uma ou mais rotas metabólicas distintas.

Na tabela 1 estão exemplificados os alcalóides segundo classificação biogenética, incluindo os principais núcleos desse grupo de substâncias.

7. DETECÇÃO E CARACTERIZAÇÃO

Tendo em vista a heterogeneidade química e a sua grande quantidade, os alcalóides não podem ser identificados em extratos vegetais com apenas um único critério cromatográfico. Usualmente, os métodos de detecção são precedidos de uma extração e consistem de reações de precipitação com reativos específicos.

Os alcalóides, semelhantemente a outras aminas, formam sais complexos com compostos de mercúrio, ouro, platina e outros metais. Esses sais são usualmente obtidos na forma de precipitados e muitos deles podem ser utilizados para caracterização micro-cristalográfica. Existem diversos reagentes gerais para a detecção de alcalóides por precipitação. A maioria dos alcalóides precipitam de soluções neutras ou levemente ácidas pelos reagentes de Mayer (solução de iodeto de potássio e cloreto de mercúrio), Dragendorff (solução de iodeto de potássio e subnitrato de bismuto), Wagner ou Bouchardat (solução de iodo e iodeto de potássio), Bertrand (solução de ácido sílico-túngstico), Hager (solução saturada de ácido pícrico), ou com solução de ácido tânico (Dominguez, 1973; Harborne, 1998). Esses precipitados podem ser amorfos ou cristalinos, possuir cores diferentes variando do branco ao marrom-alaranjado, podendo ser solubilizados em meio alcalino ou em excesso de reagente. Deve-se ressaltar que esses precipitados também podem ser causados por proteínas, purinas, betaínas, alfa-pironas, algumas cumarinas, hidróxi-fenóis e lignanas. Assim, resultados negativos com estes reagentes são indicativos da ausência de alcalóides, enquanto a formação de precipitados pode ser considerada apenas como provável presença de alcalóides.

Alguns alcalóides possuem características estruturais específicas que podem ser determinadas com reativos especiais. Assim, os alcalóides contendo hidroxilas fenólicas podem dar reações de cor com cloreto férrico ou com sais de arildiazônio. Os alcalóides tropânicos reagem com reativo de Vitali-Morin (tratamento com HNO_3 fumegante, seguido de adição de solução etanólica de KOH) e as tropolonas reagem com cloreto férrico em meio de ácido clorídrico (Baerheim-Svendsen e Verpoorte, 1983). Os alcalóides indólicos apresentam uma coloração azul com o reativo de Urk (β -dimetilaminobenzaldeído em ácido sulfúrico) e reação com o sulfato cérico amoniacal que diferencia os indóis (amarela), diidroindóis (vermelha), β -anilino-acrilatos (azul) (Farnsworth et al., 1964).

A caracterização preliminar dessas substâncias pode ser realizada através de cromatografia em camada delgada, utilizando gel de sílica ou óxido de alumínio como suporte. Uma vez que em um extrato vegetal podem ser encontradas substâncias com grande diferença de polaridade, diversos sistemas eluentes, inclusive em meio básico, devem ser utilizados. Diferentes reativos cromogênicos tais como Dragendorff, solução de iodo-iodeto e de iodoplatinato, podem ser utilizados para caracterizar alcalóides em geral e outros, como sulfato cérico amoniacal, para núcleos específicos como o grupo dos alcalóides indólicos (Harborne, 1998).

8. EXTRAÇÃO E ISOLAMENTO

Devido à presença do átomo de nitrogênio contendo um par de elétrons não-compartilhado, os alcalóides são substâncias com caráter básico e possuem propriedades químicas que se assemelham àquelas da amônia. O grau da basicidade é muito variado, dependendo da estrutura da molécula e da presença e localização de outros grupos funcionais. Tendo esse caráter de base fraca, os alcalóides são convertidos na forma de sal em soluções aquosas de ácidos minerais, e quando tratados com soluções alcalinas, o nitrogênio libera um íon hidrogênio formando uma amina livre. Essas propriedades facilitam a sua extração e isolamento de outros constituintes vegetais. Muitas vezes essas substâncias estão na forma de sal de um ácido orgânico na planta. Compostos possuindo amônio quaternário [$R_4N^+X^-$], como, por exemplo, a tubocurarina, possuem quatro grupamentos orgânicos covalentemente ligados ao nitrogênio, e a carga positiva deste íon é contrabalançada com algum íon negativo. Esse íon de amônio quaternário, não possuindo um íon hidrogênio a ser liberado, não é afetado pelo tratamento com íon hidróxido, conseqüentemente apresentando propriedades químicas diferentes das outras aminas.

Baseando-se nestas propriedades, dois métodos gerais para a extração de alcalóides (exceto aqueles contendo um nitrogênio quaternário) podem ser aplicados: um por extração com solventes em meio alcalino e outro em meio ácido. A extração deve ser precedida, preferencialmente, por um tratamento com solventes de baixa polaridade como o *n*-hexano ou o éter de petróleo para remoção de substâncias lipofílicas, tais como ceras cuticulares, terpenos e pigmentos, que podem interferir no processo extrativo produzindo emulsões.

8.1. Extração com solvente em meio alcalino

O material vegetal seco, moído e desengordurado é umidificado com água e alcalinizado. O hidróxido de amônio é comumente utilizado por ser básico o suficiente para liberar a maioria dos alcalóides, sem grande possibilidade de originar artefatos produzidos por reações tais como hidrólise de grupamentos ésteres ou amidas, e ainda por apresentar grande volatilidade. Outros agentes alcalinizantes como o carbonato de sódio ou o hidróxido de cálcio (cal virgem) são também amplamente utilizados. Estes decompõem o sal dos alcalóides na planta e os convertem na forma de bases livres. Ao mesmo tempo que forma as bases livres, a base combina com ácidos orgânicos, taninos, e outros componentes não desejados. Os alcalóides são, então, extraídos com um solvente orgânico. A escolha do solvente orgânico é influenciada por diversos fatores tais como preço,

possibilidade de recuperação, facilidade de evaporação a baixas temperaturas e baixa toxicidade. Os alcalóides são, em geral, pouco estáveis, podendo ser sensíveis a luz, pH, aquecimento e, até mesmo, a determinados solventes orgânicos, como o clorofórmio e o diclorometano que podem levar, em determinados casos à formação de artefatos e devem ser evitados. Após a extração com solvente orgânico, os alcalóides são purificados pela lavagem do extrato orgânico com uma solução ácida diluída, para a qual os alcalóides passam na forma de sal. Devido à água ser um solvente de mais difícil eliminação, em geral adiciona-se um excesso de álcali à fração ácida e, novamente procede-se uma extração com solvente orgânico. Dessa forma é obtida uma mistura bruta de alcalóides isolados do resto dos produtos metabólicos do vegetal. O diagrama esquemático para esse procedimento de extração pode ser visto na figura 3.

8.2. Extração em meio ácido

Neste procedimento a droga vegetal pulverizada é extraída diretamente com uma solução aquosa ácida (HCl 1 mol/L; H_3PO_4 0,1 mol/L ou ácido acético a 10% (V/V)) ou, alternativamente, com uma solução hidroalcolica acidificada. Após o processo de extração, segue-se uma evaporação sob pressão reduzida para eliminar o álcool, restando uma solução aquosa dos sais dos alcalóides. Os alcalóides são, então, precipitados como bases livres pela alcalinização do meio com amônia e extraídos com um solvente orgânico imiscível com a água. Alternativamente, quando os alcalóides estão na forma de sal em meio aquoso podem se fixar em colunas de troca iônica ou precipitar-se na forma de iodomercuratos. Os sais complexos formados são recuperados por filtração e dissolvidos em uma solução ceto-hidroalcolica e recuperados por cromatografia de troca iônica (Bruneton, 1993; Harborne, 1998).

A extração industrial de alcalóides baseia-se nos princípios descritos acima, e são muitas vezes realizados nos campos de colheita e a mistura bruta de alcalóides é, posteriormente, enviada à indústria para separação e purificação. Essa prática tem sido empregada, por exemplo, na obtenção dos alcalóides da quina e da coca na América do Sul e Indonésia, sendo, posteriormente, enviados para processamento na Europa, Estados Unidos e Japão (Evans, 1996).

Atualmente, outra técnica de extração, com fluido supercrítico, embora ainda não seja de uso corrente para a maioria dos alcalóides, tende a ter grande importância no processamento desses compostos, uma vez que essa técnica torna possível, pela variação da pressão aplicada e da temperatura, a obtenção de extratos semipurificados de diferentes tipos de alcalóides, tais como tropânicos (Choi et al., 1999; Brachet et al., 2000), paclitaxel (Vandana e Teja, 1997) e alcalóides isoquinolínicos (Then et al., 2000).

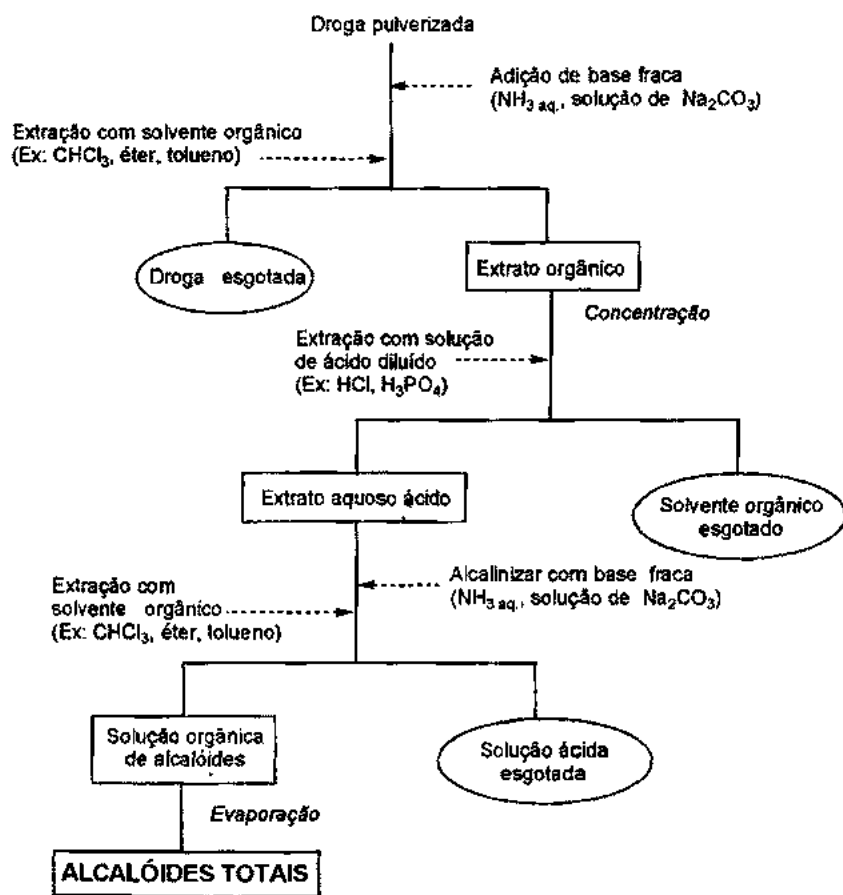


Figura 3. Esquema para o processo de extração de alcalóides com solventes orgânicos em meio alcalino.

Alcalóides líquidos voláteis, tais como a nicotina e a coniina podem ser mais convenientemente extraídos através da destilação por arraste de vapor d'água. Nesse procedimento o material vegetal é alcalinizado com hidróxido de sódio ou carbonato de sódio, para a formação das bases livres dos alcalóides, e submetido a destilação sob arraste de vapor. No caso da nicotina, o alcalóide pode ser purificado após a destilação por cristalização com ácido pícrico (Cava e Mitchel, 1966; Evans, 1996).

9. ANÁLISE QUANTITATIVA

Com relação à quantificação dos alcalóides em uma determinada droga, deve-se diferenciar entre o doseamento dos alcalóides totais presentes ou de apenas um alcalóide específico. A etapa crucial na dosagem dos alcalóides totais inicia-se pela escolha de um método geral de extração que assegure o esgotamento destes compostos na droga a ser analisada.

O método mais frequentemente utilizado na avaliação quantitativa dos alcalóides totais é a gravimetria, ou seja, a simples pesagem do resíduo de alcalóides totais obtido. Uma vez que impurezas estarão sempre presentes num extrato total, o erro por excesso será sempre considerável. Esse método pode ser aplicado a drogas cuja concentração dos alcalóides é bastante elevada e a faixa de precisão aceita bastante larga, como por exemplo, a presença de cafeína em pó de guaraná, cuja faixa normalmente aceita é de $3 \pm 1\%$. Métodos volumétricos são igualmente utilizados e baseiam-se no caráter alcalino dessas substâncias. Podem ser realizados tanto por acidimetria direta ou de retorno. Na acidimetria de retorno adiciona-se uma quantidade conhecida de um ácido diluído ao extrato alcaloídico total obtido de uma quantidade conhecida da droga. Posteriormente, mede-se o excesso de ácido não-neutralizado pelos alcalóides com um álcali em presença de indicador colorimétrico. Esse método pode ser aplicado a várias drogas tais como jaborandi, boldo e beladonna, entre outras. No caso de alcalóides com propriedades básicas muito fracas, pode-se recorrer aos métodos de protometria em meio não-aquoso (Dominguez, 1973; Bruneton, 1993; Evans, 1996).

A quantificação de um componente específico ou um grupo de constituintes em uma determinada droga fundamenta-se em alguma propriedade intrínseca dos alcalóides a serem determinados, como, por exemplo, a presença de grupos cromóforos específicos ou pela possibilidade de formação de complexos corados. Esses métodos espectrofotométricos apresentam uma elevada sensibilidade e são frequentemente preconizados. Como exemplo pode ser citado o doseamento dos alcalóides de ipeca, o qual baseia-se na formação de complexo corado com iodo e tiosulfato de sódio em uma solução-tampão acetato de sódio com posterior leitura da absorção no comprimento de onda de 432 nm (Farmacopéia Brasileira, 1996). Contudo, em um extrato bru-

to, que contenha uma mistura de várias substâncias, a determinação quantitativa poderá apresentar um certo erro. Muitas vezes esse doseamento espectrofotométrico não pode ser realizado diretamente, fazendo-se necessário associar esse método com técnicas cromatográficas obtendo-se, assim, resultados mais precisos.

Estes métodos colorimétricos foram muito difundidos no passado. Atualmente, a maioria dos trabalhos de quantificação é realizada através de métodos analíticos, tais como a cromatografia em fase gasosa (CG) e cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). As técnicas empregando CG são aplicáveis a alcalóides mais voláteis e geralmente apresentam-se acopladas à espectrometria de massas. A identificação e quantificação simultânea dos alcalóides são facilitadas pela comparação direta dos mesmos, com espectroscopias e dados da literatura, desde que a ionização seja realizada por impacto eletrônico. Essa técnica vem sendo empregada para a determinação do teor de nicotina em tabaco (Harborne, 1998) e de alcalóides indólicos (Gallagher et al., 1995; Cardoso et al., 1997), pirrolizidínicos (Schoch et al., 2000), isoquinolínicos (Pereira et al., 1999), entre outros.

No caso da CLAE, podem ser empregados detectores de arranjo de diodos que permitem, além da quantificação, a caracterização das diversas classes de alcalóides através de seus espectros de absorção na região do UV. Atualmente também é possível o acoplamento da cromatografia líquida com espectrômetros de massas. Contudo, as técnicas de ionização empregadas nesses métodos são mais suaves, como a ionização por *electro-spray* ou *termo-spray*, as quais não produzem muitos fragmentos. Nesse caso, a caracterização dos alcalóides só é possível com a disponibilidade de padrões para a comparação das massas e tempos de retenção (Selby et al., 1998; Strege, 1999). Outra possibilidade para a análise de alcalóides por CLAE é o acoplamento com o espectrômetro de ressonância magnética nuclear de hidrogênio, a qual poderia ser empregada no aumento da resolução das separações e na identificação dos alcalóides em extratos vegetais (Bobzin et al., 2000).

Com o rápido avanço da tecnologia, torna-se muito difícil compilar todas as técnicas disponíveis para o doseamento de alcalóides. Contudo, convém ressaltar que no futuro uma grande atenção será voltada para os métodos analíticos empregando a eletroforese capilar, que apresenta uma sensibilidade extremamente elevada requerendo quantidades muito pequenas do material a ser analisado e podendo ser acoplada a diferentes tipos de detectores, tais como, detector por arranjo de diodos e espectrômetro de massas. Diversas técnicas para análise de alcalóides por eletroforese capilar já foram estabelecidas, tais como a determinação de alcalóides esteroidais (Kreft et al., 2000) e quinolizidínicos (Song et al., 1999) em meio não-aquoso e de tetraidroberberinas (Koyama et al., 1999) e alcalóides tropânicos (Mateus et al., 1998; Mateus et al., 2000).

Adicionalmente, ensaios imunológicos e enzimáticos vêm sendo desenvolvidos com o intuito de analisar pequenas quantidades de substâncias químicas em misturas complexas, tais como fluidos biológicos. A determinação dos alcalóides pirrolizidínicos senecionina, retosina e senquirquina, por meio de ensaios imunológicos, demonstrou grande seletividade e sensibilidade (limite de detecção cerca de 70 fmol). A grande desvantagem dessa técnica é a necessidade de anticorpos que não estão disponíveis comercialmente, impossibilitando uma análise de rotina (Langer et al., 1998).

10. ATIVIDADES BIOLÓGICAS E EMPREGO FARMACÊUTICO

O amplo espectro das atividades biológicas reportadas aos alcalóides pode ser relacionado com sua variedade estrutural.

Devido a seu amargor e toxicidade, atuam como repelentes de herbívoros. Alguns, como o grupo dos alcalóides pirrolizidínicos, são utilizados por determinado grupo de borboletas para defesa contra predadores como as aranhas; outros, são utilizados para síntese de feromônios necessários ao acasalamento e provém das plantas que servem de alimentos às lagartas. Por outro lado, algumas espécies são tóxicas para o homem, como, por exemplo, a beladona, que serve de alimento para coelhos, os quais possuem sistema enzimático passível de hidrolizar a atropina em produtos desprovidos de toxicidade (Mann, 1994).

A presença de alcalóides pode ser assinalada em ampla gama de atividades biológicas investigadas. Assim, pode-se citar emetina (amebicida e emético), atropina, hiosciamina e escopolamina (anticolinérgicos), reserpina e protoveratrina A (anti-hipertensivos), quinina (antimalárico), camptotecina, vimblastina e vincristina (antitumorais), codeína e noscapina (antitussígenos), morfina (hipnoanalgésico), quinidina (depressor cardíaco), cafeína (estimulante do SNC), teobromina e teofilina (diuréticos), colchicina (tratamento da gota), tubocurarina (miorelaxante), efedrina (simpatomimético), castanospermina (antiviral), galantamina (tratamento do mal de Alzheimer) entre muitos outros (Samuelsson, 1992; Bruneton, 1993; Mann, 1994; Evans, 1996; Robbers et al., 1996; Cordell et al., 2001; Coyle et al., 2001).

Diversos alcalóides são utilizados em terapêutica atualmente, puros ou em associação, e também na forma de derivados. Outros são utilizados como matéria-prima para a síntese de fármacos. Na tabela 2 estão listados os alcalóides e o número de especialidades comercializadas no Brasil (DEF 2001/2002).

TABELA 2
Alcalóides comercializados no Brasil

Alcalóide (n° especialidades)
Atropina (14); berberina (2); betaína (18); cafeína (74); codeína (8); colchicina (4); diidroergoornina (1); diidroergocriptina (2); diidroergocristina (6); diidroergotamina (7); diidroergotoxina (1); efedrina (31); ergonovina (1); ergotamina (6); esparteína (1); galantamina (1); hiosciamina (2); hioscina (35); ioimbina (7); morfina (8); nicotina (1); papaverina (31); pilocarpina (2); pseudoefedrina (13); quinidina (3); quinina (11); reserpina (8); teofilina (20); topotecano (camptotecina, 1); vimblastina (2); vincamina (2); vincristina (7); vinorelbina (1).

Fonte: Dicionário de Especialidades Farmacêuticas 2001/2002

11. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BAERHEIM-SVENDSEN, A.; VERPOORTE, R. *Chromatography of alkaloids*. Amsterdam: Elsevier Scientific, 1983. 531p.
- BOBZIN, S.C.; YANG, S.; KASTEN, T.P. LC-NMR: A new tool to expedite the de-replication and identification of natural products. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*, v. 25, n. 6, p. 342-345, 2000.
- BRACHET, A.; CHRISTEN, P.; GAUVRIT, J.-Y.; LONGERAY, R. Experimental design in supercritical fluid extraction from coca leaves. *J. Biochem. Biophys. Meth.*, v. 43, n. 1-3, p. 353-366, 2000.
- BRUNETON, J. *Pharmacognosie - phytochimie - plantes medicinales*. 2^{me} ed. Paris: Technique et Documentation - Lavoisier, 1993. 915 p.
- CARDOSO, C.A.L.; VILEGAS, W.; POZETTI, G.L. Gas chromatographic analysis of indole alkaloids from *Tabernaemontana hilariana*. *J. Chromatog. A*, v. 788, n. 1-2, p. 204-206, 1997.
- CARTÉ, B.K. Biomedical potential of marine natural products. *Bioscience*, v. 46, n. 4, p. 271-286, 1996.
- CAVA, M.P.; MITCHEL, M.J. *Selected experiments in organic chemistry*. New York: Benjamin, 1966. p. 25-27.
- CHOI, Y.H.; CHIN, Y.-W.; KIM, J.; JEON, S.H.; YOO, K.-P. Strategies for supercritical fluid extraction of hyoscyamine and scopolamine salts using basified modifiers. *J. Chromatog. A*, v. 863, n. 1, p. 47-55, 1999.
- CORDELL, G.A.; QUINN-BEATTIE, M.L.; FARNSWORTH, N.R. The potential of alkaloids in drug discovery. *Phytoter. Res.*, v. 15, p. 183-205, 2001.
- COYLE, J.; KERSHAM, P. Galantamine, a cholinesterase inhibitor that allosterically modulates nicotinic receptors: effects on the course of Alzheimer's disease. *Biol. Psychiatry*, v. 49, n. 3, p. 289-299, 2001.
- DEWICK, P.M. *Medicinal natural products: a biosynthetic approach*. Chichester: John Wiley, 1997. 466p.
- DICIONÁRIO de Especialidades Farmacêuticas (DEF 2001/02). São Paulo: Publicações Científicas, 2001.

- DOMIGUEZ, X. *Métodos de investigación fitoquímica*. México: Limusa, 1973. 281p.
- EVANS, W.C. *Trease and Evan's pharmacognosy*. 14.ed. London: WB Saunders, 1996. 612p.
- FARMACOPEIA Brasileira. 4.ed. São Paulo: Atheneu, 1996. part. 2, fasc. 1, p.41.
- FARNSWORTH, N.R.; BLOMSTER, R.N.; DAMRATOSKI, D.; MEER, W.A.; CAMMARATO, L.V. Studies on *Catharanthus* alkaloids. VI. Evaluation by means of thin-layer chromatography and ceric ammonium sulfate spray reagent. *Lloydia*, v. 27, n. 4, p. 302-314, 1964.
- FREY, M.; CHOMET, P.; GLAWISCHNIG, E.; STETTNER, C.; GRÜN, S.; WINKMAIR, A.; EISENREICH, W.; BACHER, A.; MEELEY, R.B.; BRIGGS, S.P.; SIMCOX, K.; GIERL, A. Analysis of a chemical plant defense mechanism in grasses. *Science*, n. 277, p. 696-699, 1997.
- GALLAGHER, C.A.; HOUGH, L.B.; KEEFNER, S.M. Identification and quantification of the indole alkaloid ibogaine in biological samples by gas-chromatography mass-spectrometry. *Biochem. Pharmacol.*, v. 49, n. 1, p. 73-79, 1995.
- GOODWIN, T.W.; MERCER, E.I. *Introduction to plant biochemistry*. Oxford: Pergamon, 1990. 677p.
- GUIGNARD, J.L. *Biochimie végétale*. Paris: Masson, 1996. 255p.
- HARBORNE, J.B. *Phytochemical methods. A guide to modern techniques of plant analysis*. 3rd.ed. London: Chapman & Hall, 1998. 301p.
- HASLAM, E. *Shikimic acid metabolism and metabolites*. Chichester: John Wiley, 1993. 387p.
- HESSE, M. *Alkaloid chemistry*. New York: Wiley-Interscience, 1978. 231p.
- IKAN, R. *Natural products: a laboratory guide*. 2nd.ed. San Diego: Academic, 1991. 360p.
- ITOKAWA, I.; TAKEYA, K.; HITOTSUYANAGI, Y.; MORITA, H. Macrocyclic peptide alkaloids from plants. In: CORDELL, G.A. (ed.). *The alkaloids*. San Diego: Academic, 1997. v. 49, p. 301-387.
- KOYAMA, J.; TOYOKUNI, I.; KINO, A.; TAGAHARA, K. Capillary electrophoresis of tetrahydroberberine alkaloids: chiral separation by ciclo-dextrine-modified micellar electrokinetic chromatography. *Phytochem. Anal.*, v. 10, n. 4, p. 175-180, 1999.
- KREFT, S.; ZEL, J.; PUKL, M.; UMEK, A.; STRUKELJ, B. Non-aqueous capillary electrophoresis for the simultaneous analysis of solasodine and solasonine. *Phytochem. Anal.*, v. 11, n. 1, p. 37-40, 2000.
- KUTCHAN, T. Alkaloid biosynthesis - the basis for metabolic engineering of medicinal plants. *Plant Cell*, v. 7, p. 1059-1070, 1995.
- LANGER, T.; CHIZZOLA, R.; VETTER, S. Enzyme immunoassays to determine pyrrolizidine alkaloids in *Petasites hybridus*. *Pharm. Acta Helv.*, v. 72, n. 6, p. 369-370, 1998.
- LUCKNER, M. *Secondary metabolism in microorganisms, plants, and animals*. 3rd.ed. Jena: Gustav Fischer, 1990. 562p.
- MANN, J. Alkaloids. In: MANN, J.; DAVIDSON, R.S.; HOBBS, J.B.; BANTHORPE, D.V.; HARBORNE, J.B. *Natural products: their chemistry and biological significance*. Edinburg: Addison Wesley Longman, 1994. cap 7, p. 389-447.
- MATEUS, L.; CHERKAoui, S.; CHRISTEN, P.; VEUTHEY, J.L. Capillary electrophoresis for the analysis of tropane alkaloids: pharmaceutical and phytochemical applications. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, v. 18, n. 4-5, p. 815-825, 1998.

- MATEUS, L.; CHERKAOU, S.; CHRISTEN, P.; OKSMAN-CALDENTY, K.M. Simultaneous determination of scopolamine and litorine in plants and different hairy roots clones of *Hyoscyamus muticus* by micellar electrokinetic chromatography. *Phytochemistry*, v. 54, n. 5, p. 517-523, 2000.
- PELLETIER, S.W. (ed.). *Alkaloids chemical and biological perspectives*, v. 1-6. New York: Wiley, 1983-1988.
- PEREIRA, A.S.; AMARAL, A.C.F.; BARNES, R.A.; CARDOSO, J.N.; NETO, F.R.A. Identification of isoquinoline alkaloids in crude extracts by high temperature gas chromatography-mass spectrometry. *Phytochem. Anal.*, v. 10, n. 5, p. 254-258, 1999.
- ROBBERS, J.E.; TYLER, V.E.; SPEEDIE, M.K. *Pharmacognosy and pharmacobiotechnology*. New York: William & Wilkin, 1996. 337p.
- SAMUELSSON, G. *Drugs of natural origin - a textbook of pharmacognosy*. Stockholm: Swedish Pharmaceutical, 1992. 320p.
- SCHOCH, T.K.; GARDNER, D.R.; STEGELMEIER, B.D. GC/MS/MS detection of pyrrolic metabolites in animals poisoned with the pyrrolizidine alkaloid ridelline. *J. Nat. Toxins*, v. 9, n. 2, p. 197-206, 2000.
- SCHWENDER, J.; SEEMAN, M.; LICHTENHALER, H.K.; ROHMERS, M. Biosynthesis of isoprenoids (carotenoids, sterols, prenyl, side-chains of chlorophylls and plastoquinone) via a novel pyruvate/glyceraldehyde 3-phosphate non-mevanate pathway in the green alga *Scenedesmus obliquus*. *Biochem. J.*, v. 316, p. 73-80, 1996.
- SELBY, D.S.; GUILHAUS M.; MURBY, J.; WELLS R. J. Direct quantification of alkaloid mixtures by electrospray mass spectrometry. *J. Mass Spectrometry*, v. 33, n. 12, p. 1232-1236, 1998.
- SONG, J.Z.; XU, H.X.; TIAN, S.J.; BUT, P.P.H. Determination of quinolizidine alkaloids in traditional chinese herbal drugs by nonaqueous capillary electrophoresis. *J. Chromatog. A*, v. 857, n. 1-2, p. 303-311, 1999.
- SOUTHON, I.W.; BUCKINGHAM, J. (ed.). *Dictionary of alkaloids*. London: Chapman and Hall, v. 1-2, 1989.
- STREGE, M.A. High-performance liquid chromatographic-electrospray ionization mass spectrometry analyses for the integration of natural products with modern high-throughput screening. *J. Chromatog. A*, v. 725, p. 67-78, 1999.
- THEN, M.; SZENTMIHÁLY, K.; SÁRKÓZI, A. Effect of sample handling on alkaloid and mineral content of aqueous extracts of greater celandine (*Chelidonium majus* L.). *J. Chromatog. A*, v. 889, n. 1-2, p. 69-74, 2000.
- VANDANA, V.; TEJA, A.S. The solubility of paclitaxel in supercritical CO₂ and N₂O. *Fluid Phase Equilib.*, v. 135, n. 1, p. 83-87, 1997.
- WATERMAN, P.G. Chemical taxonomy of alkaloids. In: ROBERTS, M.F.; WINK, M. (ed.). *Alkaloids: biochemistry, ecology, and medicinal applications*, New York: Plenum, 1998, p. 87-107.
- WINK, M. Allelochemical properties or the raison d'être of alkaloids. In: BROSSI, A. (ed.). *The alkaloids*. San Diego: Academic, 1993, v. 43, pp 1-118.

12. SUGESTÕES PARA LEITURA

BROSSI, A.; CORDELL, G.A. (ed.). *The alkaloids*. San Diego: Academic, 1992

- BROSSI, A.; MANSKE, R.H.F. (ed.). *The alkaloids*. San Diego: Academic, 1983-1991.
- CORDELL, G.A. (ed.). *The alkaloids*. San Diego: Academic, 1993-1997.
- HERBERT, R.B. The biosynthesis of plant alkaloids and nitrogenous microbial metabolites. *Nat. Prod. Rep.*, v. 1, p. 181-193, 1984; v. 2, p. 163-179, 1985; v. 3, p. 185-203, 1986; v. 4, p. 423-440, 1987.

ALCALÓIDES TROPÂNICOS

AUTOR

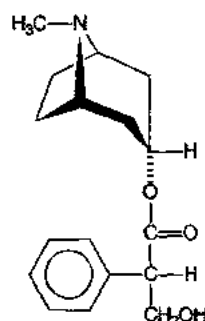
Elfriede Marianne Bacchi

SUMÁRIO DO CAPÍTULO

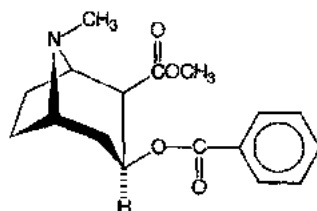
1. Introdução
2. Alcalóides de Solanaceae e Erythroxylaceae
3. Biogênese
4. Ocorrência e quimiotaxonomia
5. Propriedades físico-química e química
6. Extração e caracterização
7. Atividades farmacológicas e biológicas
8. Emprego farmacêutico
9. Drogas vegetais clássicas
10. Referências bibliográficas
11. Sugestões para leitura

1. INTRODUÇÃO

Alcalóides tropânicos apresentam em comum uma estrutura bicíclica, denominada tropano 8-metil-8-azabicyclo[3,2,1]octano). O anel tropano é formalmente constituído pelos anéis pirrolidina e piperidina. Dependendo da orientação α ou β de um grupo hidroxila na posição C-3, este fornece dois isômeros geométricos: tropanol (tropina) e pseudotropanol (ψ -tropanol ou pseudotropina). A esterificação do grupo hidroxila com ácidos aromáticos origina os alcalóides de maior importância farmacêutica e podem ser encontrados nas famílias Solanaceae (tipo atropina) e Erythroxylaceae (tipo cocaína) (figura 1) (Ro-



L-hiosciamina



(-)-cocaína

Figura 1
Alcalóides do tipo atropina e cocaína

bbers et al., 1996). Os dois tipos de alcalóides são importantes na terapêutica atual e historicamente constituíram os protótipos a partir dos quais foram desenvolvidos análogos sintéticos, principalmente das classes de fármacos anticolinérgicos e anestésicos locais.

2. ALCALÓIDES DE SOLANACEAE E ERYTHROXYLACEAE

Preparados de beladona já eram do conhecimento dos antigos hindus e têm sido usados pelos médicos por muitos séculos. Na época do Império Romano e na Idade Média, era designada como *planta da sombra da noite* e frequentemente usada para envenenamentos. Como importância do grupo na terapêutica, é importante lembrar que os alcalóides tropânicos derivados do tropanol inibem as ações da acetilcolina em efetores autônomos inervados pelos nervos pós-ganglionares colinérgicos. São conhecidos como substâncias antimuscarínicas ou bloqueadores de receptores muscarínicos colinérgicos.

A cocaína só está presente em *Erythroxylon coca* Lam. e *Erythroxylon novogranatense* (Morris) Hieron. var. *truxillense*, com variedades domesticadas. As formas nativas das hoje cultivadas não são mais conhecidas (Steinegger e Hänsel, 1992; Evans, 1996).

3. BIOGÊNESE

São conhecidos cerca de 40 alcalóides tropânicos, sendo em sua maioria derivados da pirrolidina como: higrina, cuscoigrina e os principais atropina, hiosciamina, escopolamina e cocaína. Os alcalóides tropânicos, suas principais estruturas e relação biogenética encontram-se na figura 2 (Wagner, 1982).

A formação do anel pirrolidínico ocorre através dos aminoácidos arginina ou ornitina que formam o sal N-metil- Δ^1 -pirrolíneo (figura 3). Esse sal, por sua vez, responsável pelo átomo de nitrogênio dos alcalóides, condensa-se com duas moléculas de ácido acético ativo (acetoacetato) formando o ácido cetocarbônico N-metil-pirrolidínico (I), completando, assim, o anel piperidínico que, por descarboxilação, forma a D-(+)-higrina (II) (figura 4). A partir da estrutura (I) pode-se formar a ecgonina ou o pseudotropanol, enquanto que a partir da estrutura (II) pode-se formar o tropanol ou, ainda, os alcalóides de menor importância como: higrina e o bicíclico cuscoigrina (Schneider, 1990; Steinegger e Hänsel, 1992; Robbers et al., 1996).

Pode-se observar, ainda, que a formação da hiosciamina, atropina, escopolamina e cocaína, tem a mesma origem biogenética e bem definida inferida na figura 4. A interconversão de bases tropânicas *in vivo* foi verificada em *Datura ferox* L., alimentando a planta livre de alcalóides com 6,7-des-hidroiosciamina, foi formada hioscina. Híbridos de *Datura stramonium* L. (contendo principalmente hiosciamina) e *D. ferox* L. têm no broto uma enzima que causa epoxidação e que está ativa durante todo período vegetativo, a qual transforma hiosciamina em escopolamina.

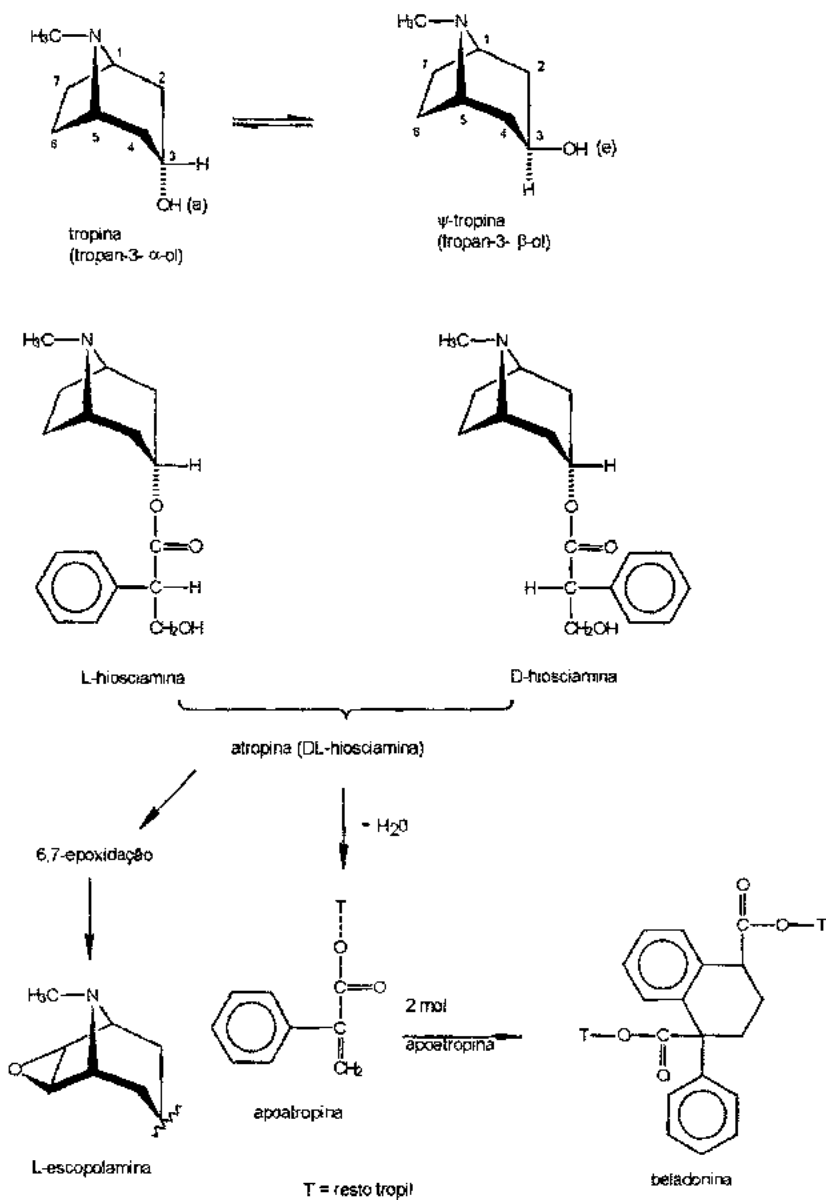


Figura 2. Estrutura dos principais alcalóides tropânicos e sua relação biogenética (Wagner, 1988)

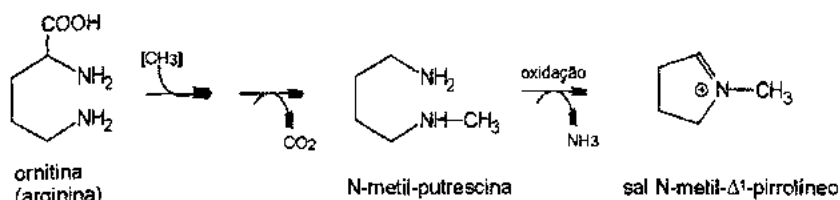


Figura 3. Desaminação oxidativa da diamina com formação do sal N-metil-D¹-pirrolíneo

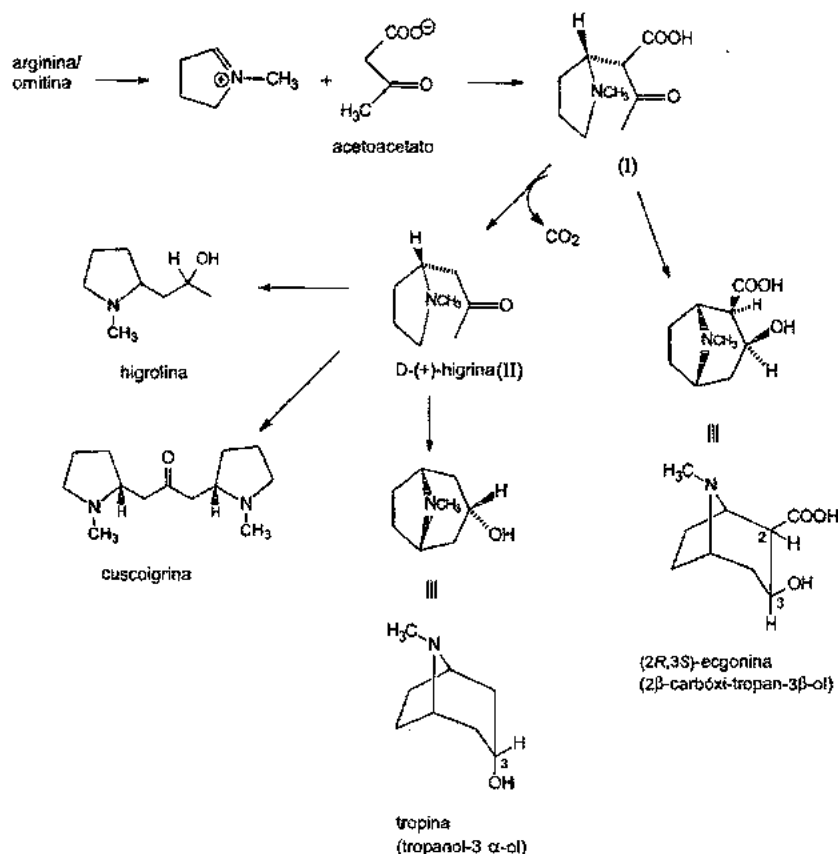


Figura 4. Formação da tropina e pseudotropina e de alcalóides mais simples derivados da higrina

Outro componente importante na biogênese dos alcalóides tropânicos é o ácido trópico (ácido α -fenil- β -hidróxi-propionico), que deriva da fenilalanina, através de uma desaminação oxidativa e deslocamento 2,3 do grupo carboxílico (Schneider, 1990; Evans, 1996) (figura 5).

Grande parte dos estudos recentes da origem biogenética do ácido trópico foi baseada em cultura de raízes (Cusido et al., 1999). As culturas são obtidas por infecção da superfície ligeiramente danificada da folha ou do caule estéril de plantas produtoras de ácido trópico, como *Datura stramonium* L., com uma suspensão de bactéria patogênica, *Agrobacterium rhizogenes*. A bactéria insere nas células da planta uma pequena porção de DNA (Ri-DNA), o qual estimula a divisão celular, provocando a formação da raiz. As raízes emergentes podem ser removidas, tratadas com antibiótico, para eliminar as bactérias remanescentes, e cultivadas em um meio líquido estéril.

As culturas não são apropriadas para todos estudos. Em *Datura stramonium* L., a escopolamina é o produto em maior quantidade nas folhas, mas somente traços desse alcalóide são recuperados de culturas de raízes. Em outras espécies, como *Hyoscyamus muticus* L. ou um híbrido de espécies de *Brugmansia*, a escopolamina se acumula em culturas de raízes, como o alcalóide majoritário. Um requerimento chave para o uso de cultura de raízes, é que esse tecido deve ser o local de biogênese do vegetal. Estudos em cultura de raízes demonstraram que, apesar de fenilalanina, fenilpiruvato e fenilacetato serem incorporados na metade éster tropato da hiosciamina, (*R*)-fenil lactato é o estereoisômero utilizado durante a biogênese do éster trópico. Existem evidências de que o éster tropínico de (*R*)-fenilacetato, litorina, sofre rearranjo *in vivo* para hiosciamina (figura 6) (O'Hagan e Robins, 1998). O esqueleto tropânico é originário de ornitina, acetato e metionina. Os quatro áto-

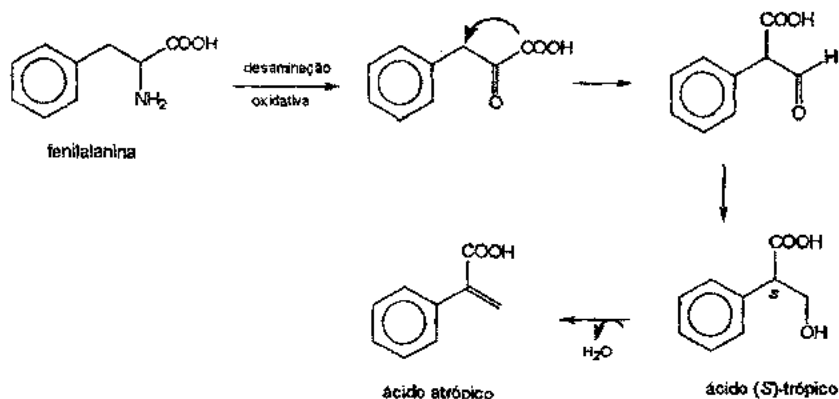


Figura 5. Formação do ácido trópico a partir da fenilalanina

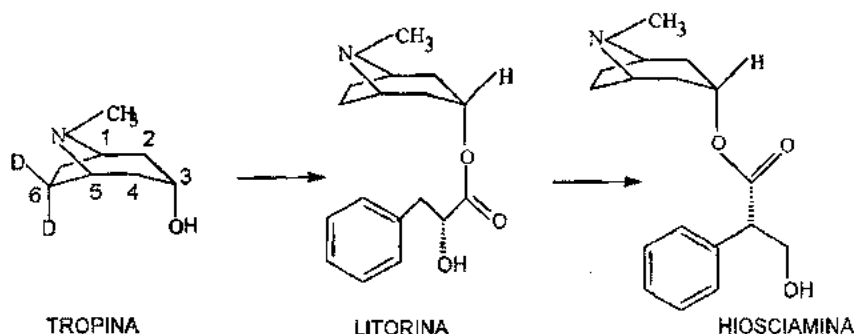


Figura 6: Litorina como intermediário na biogênese de hiosciamina.

mos de carbono, C1, C5, C6 e C7 e o átomo de nitrogênio da tropina (figura 6) derivam da ornitina. Os três átomos de carbono restantes, C2, C3 e C4 são provenientes do acetato (Duran-Patron et al., 2000; O'Hagan, 2000).

Litorina e hiosciamina são encontradas conjuntamente em espécies de *Datura* e em outras Solanáceas produtoras de alcalóides. Como verificado anteriormente, em diversos experimentos, houve indicação de que a litorina é um precursor da hiosciamina (Nakanishi et al., 1998).

Shonle e Bergelson (2000) estudaram a seleção natural dos dois alcalóides existentes em maior porcentagem nas folhas de *Datura stramonium* L.. Existem evidências de que insetos herbívoros atuam como agentes de seleção para esses alcalóides. Foi verificada uma seleção natural negativa para escopolamina, isto é, a seleção natural atuando no sentido de diminuir o teor de escopolamina, e mantendo um teor intermediário de hiosciamina.

4. OCORRÊNCIA E QUIMIOTAXONOMIA

Os alcalóides tropanicos de *Datura* (*Datura stramonium* L.) foram introduzidos na medicina européia por imigrantes romanos (ciganos). A família Solanaceae é considerada o lar dos alcalóides tropanicos. As drogas contendo alcalóides tropanicos foram utilizadas por suas propriedades alucinógenas, incorporando-se no folclore como bruxaria. O maior espectro de alcalóides tropanicos é encontrado em representantes da tribo Datureae, nos gêneros *Datura* e *Brugmansia*. *Atropa belladonna* L., pertencente a tribo Solaneae, é uma espécie muito estudada, possuindo como alcalóides principais hiosciamina, escopolamina e apoatropina. Apesar de o gênero *Solanum* não conter os alcalóides tropanicos usuais, a presença de calistegina A₃ (1β,2α,3β-triidróxi-nortropano) juntamente com calistegina B₂, foi verificada nas folhas de algumas de suas espécies, tais como *Solanum tuberosum* L., *Solanum dulcamara* L. e *Solanum melongena* L. (Griffin e Lin, 2000).

Os alcalóides do grupo da higrina, tropina, cuscoigrina e nicotina são bastante característicos da família Solanaceae. Em muitas espécies, após brotamento, pode haver transposição e transformação, como epoxidação. Em outras, os alcalóides encontram-se praticamente só nas raízes, indicando uma deposição nas mesmas ou uma decomposição no broto. De acordo com Shonle e Bergelson (2000), os alcalóides tropânicos são sintetizados nas raízes e acumulados nos vacúolos.

Alcalóides tropânicos isolados de várias espécies das famílias Convolvulaceae, Dioscoreaceae, Erythroxylaceae e Solanaceae, exibem a mesma estrutura básica. Todos são ésteres de ácidos orgânicos (atrópico, benzóico, cinâmico, isovalérico, d- α -metilbutírico, tíglico, trópico, truxílico e verátrico) combinados com uma série de hidraminas bíciclicas (metilecgonina, nortropina, pseudotropina, escopina, tropina e outros) (Holmes, 1950).

Esses alcalóides estão presentes em alguns dos 85 gêneros da família Solanaceae, destacando-se *Atropa*, *Datura*, *Duboisia*, *Mandragora* e *Scopolia* (Steinegger e Hänsel, 1992), sendo encontrados, porém, em menor número, nas famílias Erythroxylaceae, Convolvulaceae e Dioscoreaceae. Todas as espécies possuem misturas de alcalóides tropânicos, principalmente com hiosciamina e escopolamina, nas folhas e sementes, enquanto que as flores e raízes apresentam misturas mais complexas de ésteres tropânicos e de outros derivados tropânicos.

Hyoscyamus niger L. é vegetal-oficial em muitos países e conhecido há muito como espécie contendo hiosciamina e escopolamina. *Hyoscyamus muticus* L., que contém um teor mais elevado de alcalóides, principalmente hiosciamina e tetrametilputrescina, também é utilizado farmacêuticamente. Todas as espécies estudadas do gênero contêm hiosciamina e escopolamina em folhas e sementes.

A literatura sobre química, biogênese, fisiologia e farmacologia de Solanaceae, contendo alcalóides tropânicos e nicotínicos é muito ampla, encontrando-se literatura específica em Hegnauer (Hegnauer, 1973).

O gênero *Erythroxylon* possui cerca de 200 espécies, distribuídas nas regiões tropicais da América do Sul e da ilha de Madagascar (Griffin e Lin, 2000). A cocaína encontra-se nas folhas de *Erythroxylon coca* Lam. (família Erythroxylaceae) e nas variedades domesticadas como a var. *spruceanum* Bruck, também conhecida por coca-do-eru ou coca-de-java e em *Erythroxylon novogranatense* (Morris) Hieron var. *truxillense*, denominada coca-da-colômbia (coca-truxilo).

Defesas químicas em insetos, particularmente lepidópteros, contra predadores, têm sido observadas desde o século XIX. Substâncias como alcalóides tropânicos podem ser seqüestradas da planta hospedeira larval, obtidas de fontes vegetais visitadas por adultos ou biossintetizadas *de novo*. Alcalóides tropânicos foram encontrados em larvas e adultos de *Placidula euryanassa*, tendo sido seqüestrados da planta hospedeira das larvas, *Brugmansia suave-*

olens (Willd.) Bercht. et J.Presl. A larva de *Miralleria cymothoe*, que se alimenta do mesmo hospedeiro, excreta aqueles alcalóides (Trigo, 2000).

5. PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICA E QUÍMICA

Entre os alcalóides das Solanáceas destacam-se, pela importância terapêutica atual, a escopolamina e a hiosciamina. Esta é o isômero levógiro formado a partir do ácido (-)-trópico. A atropina é o composto racêmico, isto é, (RS)-hiosciamina, que parece não existir na planta fresca. Durante a colheita, secagem e, principalmente, extração, a (RS)-hiosciamina transforma-se facilmente em atropina (Schneider, 1990), a qual, por sua vez, pode ser transformada em apatropina, pela perda de uma molécula de água. Embora possa ser obtida por síntese, a atropina ainda é obtida a partir de fontes naturais. Na forma de base livre, é obtida como cristais incolores e apresenta baixa solubilidade em água, sendo solúvel em etanol e em clorofórmio. Apresenta reação alcalina em soluções saturadas, alcançando pH 9,5. A base livre é utilizada em vesículos oleosos, no entanto, devido a melhor solubilidade e estabilidade, é utilizada, principalmente, na forma de sulfato. Este é preparado neutralizando atropina, em acetona ou éter, com solução de H_2SO_4 , cuidadosamente, para prevenir a hidrólise.

A escopolamina é o estereoisômero levorotatório, isto é, (S)-(-)-escopolamina (hioscina); em meio alcalino ocorre a racemização, resultando na mistura denominada atoscina. A tendência à racemização, no entanto, é menor do que com a hiosciamina. Na forma de base livre, é um líquido viscoso solúvel em água. Forma um mono-hidrato cristalino, de ponto de fusão 59 °C. É utilizada também na forma de bromidrato e butilbrometo.

O outro grupo de alcalóides é aquele encontrado apenas em folhas de coca, que contém três tipos básicos de alcalóides (Steinegger e Hänsele, 1992; Robbers et al., 1996):

- a) derivados da ecgonina: cocaína, cinamoilcocaína e a cocamina (α - e β - truxilina);
- b) derivados da tropina: tropacocaína e valerina, que se diferenciam dos anteriores pela ausência da carboxila em C-2 e posição α da hidroxila (figura 7);
- c) derivados da higrina: higrolina e cuscoigrina, caracterizados pelo anel N-metil-pirrolidina monocíclico.

Entretanto, do ponto de vista comercial, somente os derivados da ecgonina são importantes. A composição da mistura de alcalóides nas folhas varia qualitativa e quantitativamente de acordo com a variedade da planta e o estágio de desenvolvimento das folhas (Robbers et al., 1996).

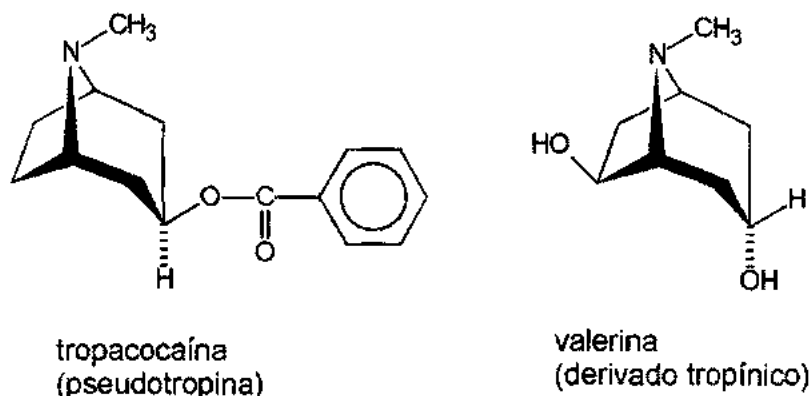


Figura 7. Alcalóides da coca

A cocaína não é obtida diretamente das folhas de coca, pela dificuldade de separação da cinamoilcocaína e cocamina. As bases extraídas são hidrolisadas a ecgonina. Esta, por sua vez, é transformada por síntese parcial em (-)-cocaína, por esterificação com metanol e por benzoilação do produto intermediário (metiléster de ecgonina) (Steinegger e Hänsel, 1992; Robbers et al., 1996). O sal mais utilizado é o cloridrato, obtido como pó cristalino branco ou sem cor, inodoro, de sabor amargo e acre, seguido de uma ação anestésica sobre a língua.

6. EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DOS ALCALÓIDES

Os alcalóides tropânicos são muito semelhantes nas suas características físico-químicas. Por serem aminas terciárias, possuem um comportamento semelhante ao da maioria dos alcalóides, ou seja, são solúveis, como bases livres, em solventes apolares e, na forma de sais, em solventes polares. É conhecido que os alcalóides, de maneira geral, encontram-se, no vegetal fresco, combinados com ácidos fracos, portanto, solúveis em água. A transformação sal-base é o processo mais comum utilizado para a purificação de alcalóides, sendo válida também para alcalóides tropânicos (Franz e Koehler, 1992; Mann et al., 1994). A extração pode ser iniciada através de solventes polares (ácidos diluídos) ou apolares (solventes orgânicos em meio alcalino), dependendo muito das substâncias acompanhantes, que não deverão ser transferidas para o extrato, obtendo-se, dessa maneira, uma purificação inicial, objetivando a determinação qualitativa ou quantitativa. Caso os alcalóides tropânicos sejam extraídos como bases livres a partir dos sais, não devem ser adicionadas bases fortes, pois os ésteres podem ser saponificados (atropina, cocaína) ou ainda, podem provocar racemização, como na hiosciamina, transformando-a em atropina (Bruneton, 1991).

A extração por fluido supercrítico é um método bastante utilizado para

a extração de metabólitos secundários, a partir de matrizes sólidas, como material vegetal. Representa uma alternativa para a extração sólido-líquido tradicional, como por Soxhlet, com menor consumo de solvente e temperatura. A cocaína já foi extraída por fluido supercrítico em amostras de cabelo. Brachet et al. (1999) utilizaram a extração por fluido supercrítico, com modificador polar, para a obtenção de hiosciamina e escopolamina a partir de cultura de raízes de *Datura candida* (Pers.) Saff. x *Datura aurea* (Lagerh.) Saff. e de cocaína, a partir de *Erythroxylon coca* Lam. var. *coca*.

Os alcalóides tropânicos reagem com os reativos gerais para alcalóides, como Dragendorff, Mayer, Bertrand e Bouchardat. A reação de coloração mais utilizada é aquela desenvolvida por Vitali e Gerrard (figura 8) (Holmes, 1950; Wichl, 1971), em que uma quantidade mínima (até 0,0001 mg) de atropina, (-)-hiosciamina ou (-)-escopolamina é tratada com ácido nítrico concentrado e ao resíduo obtido por evaporação adiciona-se uma solução de hidróxido de potássio em etanol. Desenvolve-se uma coloração púrpura que, com o tempo, passa a vermelho escuro e, finalmente, a incolor. Em uma variação desta reação, conhecida por Vitali-Morin, o resíduo da nitrção é retornado em acetona e tratado com solução alcalina, o que aumenta sua sensibilidade. Deve-se destacar que a reação é pouco específica, pois, além dos alcalóides tropânicos, são conhecidos dezenas de outros grupos de fármacos que apresentam resultado positivo.

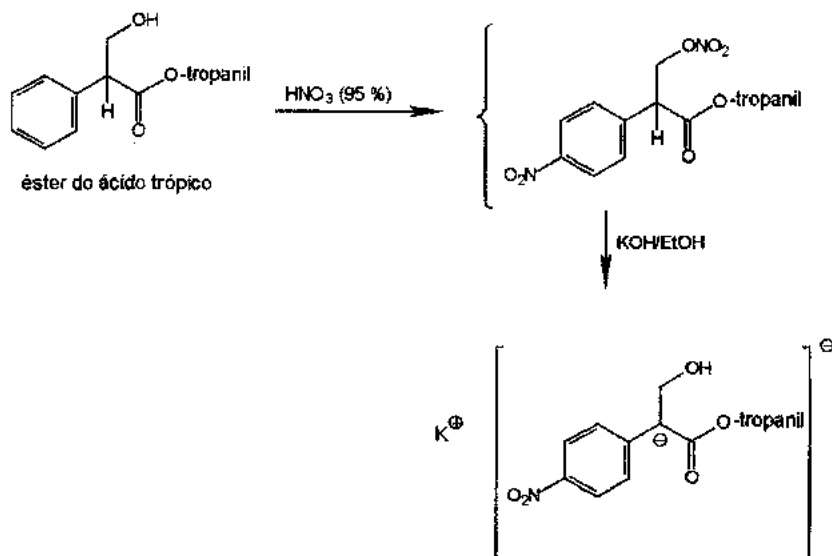


Figura 8. Reação de Vitali, mecanismo segundo Auterhoff (1981)

Para a detecção de cocaína pode ser realizada uma reação de coloração com tiocianato de cobalto. Uma solução de $\text{Co}(\text{CNS})_3$ a 2% em glicerina-água desenvolve uma coloração azul.

Pode ser realizada, ainda, uma prova de odor com a cocaína ou pasta de coca. Esta é colocada em contato com uma solução metanólica de KOH, até evaporação de grande parte do metanol. A droga ou pasta desenvolve um odor agradável de éster metílico do ácido benzóico. A reação é bastante específica; somente piperocaína reage de maneira semelhante. Em alguns países, não é verificada somente a presença de cocaína na coca, mas também do enantiômero natural (-)-cocaína. A detecção é realizada através da formação de sais com ácido di-*p*-toluol-(+)-acético ou ácido(-)-acético (Steinberger e Hänsel, 1992).

Com maior especificidade, os alcalóides tropânicos também podem ser caracterizados através de cromatografia em camada delgada, utilizando-se sistemas cromatográficos descritos na literatura (Wagner e Bladt, 1996). Os alcalóides atropina e escopolamina, como constituintes principais da fração alcaloídica de Solanaceae, coram-se de alaranjado, sendo uma coloração instável, frente ao reativo de Dragendorff.

Uma diferenciação através da cromatografia em camada delgada das três drogas (beladona, meimendo e estramônio) é baseada na relação hiosciamina-escopolamina e, até certo ponto, nos alcalóides existentes em menor proporção, como beladonina, atropamina e cuscoigrina. Em folhas de beladona, a relação de hiosciamina para escopolamina é de 20:1, com os alcalóides presentes também nas raízes e sementes. Em folhas de meimendo (*Hyoscyamus niger* L.) a proporção é de 1,2:1, e em folhas de estramônio (*Datura stramonium* L.) de 2:1. Além da CCD, outros métodos cromatográficos como CLAE ou esta, em combinação com espectrometria de massas, têm sido utilizados para a determinação de hioscina em líquidos biológicos humanos. A eletroforese capilar de zona acoplada a UV, em interface com espectrometria de massas por ionização por *electrospray*, foi desenvolvida para a análise simultânea de hiosciamina e escopolamina (Mateus et al., 1999). Já hiosciamina, escopolamina e litorina foram separadas por cromatografia eletrocínética micelar, a partir de culturas de raízes de *Hyoscyamus muticus* L. (Mateus et al., 2000).

O doseamento pode também ser realizado por titulometria e o alcalinizante deve ser hidróxido de amônio ou outra base fraca, uma vez que bases fortes causam hidrólise dos alcalóides tropânicos. É realizada a titulação por retorno, utilizando-se, por exemplo, HCl 0,01 M a 0,02 M. O alcalóide livre é salificado com ácido, e o excesso de ácido titulado por uma base. Esse método doseia alcalóides totais.

A identificação dos alcalóides tropânicos também pode ser realizada por reações histoquímicas, uma vez que essas substâncias encontram-se principalmente no parênquima esponjoso.

Existem métodos biológicos, que entretanto são pouco utilizados na rotina da indústria farmacêutica. A midríase é característica dos alcalóides tropânicos, sendo que uma quantidade de 0,002 mg de atropina, injetada subcutaneamente em camundongos, provoca dilatação da pupila.

7. ATIVIDADES FARMACOLÓGICAS E BIOLÓGICAS

Os alcalóides da beladona são absorvidos rapidamente a partir do trato gastrointestinal. Penetram na circulação sanguínea quando aplicados topicamente nas mucosas. Na pele intacta sua absorção é apenas limitada. A maior parte da atropina é excretada na urina nas primeiras doze horas após sua administração, em parte, inalterada, no entanto, os efeitos oculares podem persistir por alguns dias.

Os alcalóides tropânicos inibem as ações da acetilcolina em efetores autônomos inervados pelos nervos pós-ganglionares colinérgicos, bem como na musculatura lisa, que é desprovida de inervação colinérgica. Os agentes muscarínicos, de maneira geral, têm pouco efeito sobre as ações da acetilcolina em receptores nicotínicos. Na junção neuromuscular, na qual os receptores são nicotínicos, são necessárias doses extremamente altas de alcalóides tropânicos para produzir algum grau de bloqueio. É provável que a maioria dos efeitos dos alcalóides tropânicos no SNC em doses usuais seja atribuível às suas ações antimuscarínicas centrais. Em doses altas ou tóxicas, os efeitos centrais dos referidos alcalóides consistem, em geral, de estimulação seguida por depressão. Pequenas doses deprimem as secreções salivar, brônquica e a sudorese. Com doses maiores, há dilatação da pupila, a capacidade de acomodação do olho é inibida e os efeitos vagais sobre o coração são bloqueados, o que ocasiona o aumento da frequência cardíaca. Doses maiores inibem o controle parassimpático da bexiga e do trato gastrointestinal, dificultando a micção e diminuindo o tônus muscular e a motilidade intestinal. Doses ainda maiores são necessárias para inibir a secreção e a motilidade gástricas (Weiner, 1987).

As ações antimuscarínicas da atropina e da escopolamina diferem quantitativamente. A escopolamina tem ação mais potente sobre a íris, o corpo ciliar e certas glândulas secretoras (salivares, brônquicas e sudoríparas), sendo a atropina mais potente no coração, nos intestinos e músculos bronquiolares, além de ter ação mais prolongada. No entanto, a ação no sistema nervoso central é marcadamente diferenciada: enquanto a escopolamina provoca depressão, a atropina não deprime o SNC em doses usadas clinicamente e, portanto, é preferida à escopolamina na maioria das situações. Quando algum efeito central não é desejável ou, até mesmo, desejável, como em medicação pré-anestésica, a escopolamina é frequentemente administrada.

A atropina, no SNC, estimula a medula espinal e os centros cerebrais superiores. A escopolamina, em doses terapêuticas, normalmente causa so-

nolência, euforia, amnésia, fadiga e sono sem sonhos. As substâncias atropínicas dilatam a pupila (midríase) e paralisam a acomodação (cicloplegia).

O interesse nas ações de substâncias antimuscarínicas sobre o estômago e o intestino deriva de seu largo emprego como agentes antiespasmódicos nos distúrbios gastrointestinais e no tratamento da úlcera péptica. A secreção salivar é particularmente sensível à inibição por substâncias antimuscarínicas, as quais podem abolir por completo a secreção copiosa e aquosa induzida pelo parassimpático. A boca fica seca, tornando-se difícil a fala e a deglutição. A estimulação do parassimpático aumenta o tônus e a motilidade, relaxa os esfíncteres, favorecendo a passagem do quimo através dos intestinos. Tanto em pacientes normais quanto naqueles com afecções gastroduodenais, doses terapêuticas de atropina causam efeitos inibidores prolongados sobre a atividade motora do estômago, do duodeno, do jejuno, do íleo e do cólon, caracterizados por uma diminuição do tônus, na amplitude e na frequência das contrações peristálticas. As doses eficazes deprimem a secreção salivar e, em geral, causam efeitos cardíacos e oculares.

Drogas antimuscarínicas têm sido amplamente empregadas no tratamento da úlcera péptica. Aparecem como efeitos colaterais secunda da boca, perda de acomodação visual, fotofobia e dificuldade na micção. É difícil estabelecer a utilidade dos antimuscarínicos no tratamento da úlcera péptica.

Os alcalóides tropânicos e seus substitutos sintéticos reduzem a salivagem excessiva, como a associada ao envenenamento por metais pesados ou parkinsonismo.

A atropina e os outros alcalóides tropânicos e seus substitutos reduzem as secreções, tanto nas porções mais altas quanto nas mais baixas do trato respiratório. Na nasofaringe, esse efeito pode produzir um alívio sintomático da rinite aguda associada à coriza. Os alcalóides tropânicos podem induzir dilatação brônquica, tendo sido muito usados no tratamento de asma brônquica. Parecem exercer efeitos benéficos quando há obstrução das vias aéreas associada à bronquite crônica.

Quando administrados por via sistêmica, os agentes antimuscarínicos podem reduzir o volume de secreção brônquica, o que pode resultar em diminuição da fluidez e conseqüente aumento da viscosidade das secreções residuais. É difícil remover esse material viscoso da árvore respiratória e sua presença pode obstruir de forma perigosa as vias aéreas, predispondo à infecção.

Os alcalóides tropânicos foram muito utilizados no passado, quando eram administrados previamente ao anestésico geral, com a função de evitar o excesso de secreções salivares e do trato respiratório; a sua ação broncodilatadora concomitante também era importante nestes casos. Atualmente esse uso é muito restrito, uma vez que os anestésicos tornaram-se menos irritantes (Weiner, 1987).

A ingestão deliberada ou acidental de alcalóides da beladona é uma das

principais causas de intoxicação com medicamentos, plantas ou extrativos vegetais. Delírio ou psicose, sem manifestações periféricas, têm sido relatados em adultos após instilação de gotas de atropina na conjuntiva ocular. Intoxicações podem ocorrer após a ingestão deliberada, para efeitos alucinógenos, de medicamentos para asma brônquica, que contenham beladona em sua fórmula. Intoxicações graves podem ocorrer em crianças que ingerem sementes ou frutos que contêm alcalóides tropânicos (Weiner, 1987). No Brasil, os acidentes ocorrem especialmente com espécies dos gêneros *Datura* e *Brugmansia* (ver capítulo "Plantas tóxicas").

Sobre as ações farmacológicas da cocaína, ver coca, no item drogas vegetais clássicas.

8. EMPREGO FARMACÊUTICO

Medicamentos contendo alcalóides tropânicos são utilizados para diminuição de cólicas nos ureteres e aquelas provocadas por cálculos renais; em espasmos brônquicos, nos casos de asma brônquica. São também utilizados em espasmos do trato gastrointestinal, portanto, contra cólicas e em hipersecreção gástrica. Esse grupo de substâncias também tem uso como anestésico local, por atuar na dessensibilização das terminações nervosas. Em função de sua ação antiespasmódica, os alcalóides tropânicos são utilizados em colites e gastroenterites. A ação antissecretora permite o uso na redução da secreção respiratória, como medicação pré-anestésica, e das secreções nasais, em alergia. Também são utilizados como antídotos em envenenamentos por inibidores da colinesterase, como por inseticidas organofosforados e carbamatos. A par da utilização dos alcalóides isolados, principalmente atropina e escopolamina e seus derivados semi-sintéticos, existe um número significativo de produtos contendo extratos vegetais das plantas desse grupo. Especificamente com a beladona, no Catálogo Brasileiro de Produtos Farmacêuticos, da Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária, editado em 1984, eram mencionados 248 produtos (Ortega et al., 1989).

O sulfato de atropina é um sal solúvel, disponível sob as formas de comprimidos, solução injetável e solução oftálmica. A dose média, por via oral ou parenteral de sulfato de atropina, para adultos, é de 0,5 mg. A escopolamina é comercializada sob a forma de sal solúvel, o bromidrato de escopolamina; a dose para adultos, por via oral ou parenteral, é de 0,6 mg. A escopolamina também pode ser usada sob a forma de solução oftálmica (Weiner, 1987).

A falta de seletividade dos alcalóides tropânicos para as funções colinérgicas a serem bloqueadas nas diferentes enfermidades, em particular, do trato gastrointestinal, tem levado à pesquisa de novas substâncias antimuscarínicas, com maior seletividade de efeitos. As principais diferenças em termos de propriedades farmacológicas dos alcalóides tropânicos e seus derivados são

apresentadas pelos compostos que têm estrutura de amônio quaternário. Essas substâncias são pouco e irregularmente absorvidas após administração por via oral e, portanto, para comparação de suas potências com as dos alcalóides tropânicos, a via de administração deve ser a parenteral. Com esses compostos geralmente não ocorrem efeitos centrais, uma vez que dificilmente atravessam a barreira hemato-encefálica. Os compostos de amônio quaternário costumam apresentar ação um pouco mais prolongada. Essas substâncias têm maior potência nos receptores nicotínicos; alguns dos efeitos colaterais observados após altas doses devem-se ao bloqueio ganglionar. A intoxicação por compostos de amônio quaternário pode causar bloqueio muscular curariforme, ocasionando parada respiratória.

Existem observações clínicas de que os compostos de amônio quaternário têm efeito relativamente maior na atividade gastrointestinal e que as doses necessárias para tratar distúrbios do tubo digestivo são, portanto, mais facilmente toleráveis; esse fato deve-se ao bloqueio ganglionar adicional. Tanto os alcalóides de amônio quaternário, como a atropina, não produzem controle adequado da secreção gástrica ou da motilidade gastrointestinal, em doses que não apresentam efeitos colaterais significativos, por bloqueio muscarínico.

A cocaína atualmente só é utilizada terapeuticamente como anestésico local.

9. DROGAS VEGETAIS CLÁSSICAS

BELADONA

Nome científico: *Atropa belladonna* L.

Família botânica: Solanaceae

Parte usada: folhas e sumidades floridas

Monografias farmacopéicas: está inscrita nas Farmacopéias de praticamente todos países; a Ph. Eur. III e as farmacopéias de países europeus apresentam também monografia para o pó normatizado das folhas.

A beladona provavelmente já era conhecida pelos povos antigos, não existindo relatos exatos até o início do Século XVI. As folhas foram introduzidas na *London Pharmacopeia* de 1809. O nome *Atropa* lembra uma das parcas da mitologia grega, que era encarregada de interromper o fio da vida dos mortais e a designação popular *Bella Donna*, vem da Itália, onde as mulheres utilizavam o sumo dos frutos que, por serem midriáticos, aumentavam o tamanho da pupila, tornando-as mais bonitas (Font Quer, 1985).

Atropa belladonna L. é um arbusto perene, com 0,5 a 1,5 m de altura, existente principalmente na Europa Central e Sul. O cultivo ocorre principalmente na Alemanha, Inglaterra, Índia e Estados Unidos (Steinegger e Hänsel, 1992).

A droga da Farmacopéia Brasileira consiste de todas as partes aéreas, mas a Ph. Eur. III estabelece um limite máximo de 3% de caules de diâmetro

maior que 5 mm, enquanto que a USP 23 admite o mesmo percentual, mas para caules com diâmetro maior que 10 mm. Esta última também admite *Atropa acuminata* Lindl. na monografia de folhas de beladona e exige 0,35% de alcalóides, enquanto a Farmacopéia Brasileira e Ph. Eur. III determinam um teor mínimo de 0,3% de alcalóides totais calculados como hiosciamina. Tanto a Ph. Eur. III como a USP 23 incluem monografias para o pó normatizado das folhas, com teor de alcalóides totais entre 0,28 e 0,32%. Raízes também estão inscritas em algumas farmacopéias (Argentina, 1943). As raízes do primeiro ano não devem ser coletadas, porque não são comercialmente viáveis, apesar de terem um teor elevado de alcalóides, sendo recomendada a coleta a partir do terceiro ano (Evans, 1996).

Folhas armazenadas com umidade deterioram, eliminando amônia. Na cromatografia em camada delgada das folhas de beladona não deve aparecer apoatropina ou 3 α -tropanol livre. Caso isso ocorra, a droga deve ter sido armazenada em temperatura muito elevada (Steinegger e Hänsel, 1992). Dos adulterantes de beladona, citados na Farmacopéia Européia, *Phytolacca americana* L. (Phytolaccaceae) e *Ailanthus altissima* (Mill.) Swingle (Simaroubaceae) são os mais importantes e comuns (Steinegger e Hänsel, 1992).

Folhas de beladona são utilizadas principalmente para preparações internas, pela ação antiespasmódica, em cólicas no trato gastrointestinal e nos canais biliares (Kommission E, 1985) e para diminuição das secreções. As preparações de raízes são, de preferência, utilizadas externamente.

Dados químicos:

As folhas de *Atropa belladonna* L. contêm em média 0,30 a 0,50% de alcalóides, sendo o principal (-)-hiosciamina. Pequena quantidade de bases voláteis, como nicotina, piridina e N-metilpirrolina estão presentes, bem como glicosídeos flavônicos e as cumarinas escopoletina e escopolina. São encontrados, também, higrina, higrolina, cuscoigrina, tropinona, tropina, pseudotropina e nove ésteres de tropanol. Além destes, encontra-se beladonina (um produto de degradação, derivado da condensação da apoatropina) (Evans, 1996; Steinegger e Hänsel, 1992). A relação hiosciamina-escopolamina é de 20:1, sendo as folhas de beladona pobres em escopolamina, o que as diferencia do estramônio e meimendo, que possuem um teor maior em escopolamina.

As raízes contêm de 0,4 a 0,8% de alcalóides, calculados como hiosciamina.

Dados farmacológicos e toxicológicos:

A droga, tanto partes aéreas como raiz, tem ação antiespasmódica sobre a musculatura lisa do TGI, vesícula biliar e bexiga, além de diminuir as secreções. Em doses elevadas é estimulante do SNC, podendo induzir o indivíduo ao coma profundo. A ação estimulante sobre o SNC deve-se ao maior teor de hiosciamina em relação à escopolamina (Stahl e Schild, 1981).

A beladona é conhecida como uma espécie altamente tóxica, tendo sido empregada como veneno desde tempos antigos (Lewis, 1977). Todas as partes da planta devem ser consideradas tóxicas. No entanto, as intoxicações de modo geral ocorrem pela ingestão dos frutos pretos, atraentes e de sabor doce, principalmente pelas crianças, para as quais 3 a 4 frutos são considerados letais (Roth et al., 1988). A gravidade das intoxicações por beladona é dependente do teor de alcalóides tropânicos, podendo ocorrer: secura da boca e da pele, hipertermia, dilatação das pupilas e dificuldade de visão, sede e dificuldade de deglutição, taquicardia, agitação, dor de cabeça, estado de excitação, incoordenação muscular, apatia, alucinações e perda de consciência (Roth et al., 1988; Steinegger e Hänsel, 1992).

Efeitos adversos e precauções de uso:

Como os alcalóides tropânicos têm ação anticolinérgica, em qualquer efeito desejado, poderão ocorrer as outras ações do simpático como efeitos colaterais.

A droga e suas preparações são contra-indicadas em taquicardia, arritmias, adenoma de próstata, glaucoma, edema de pulmão, estenose no trato gastrointestinal e megacolon. Como efeitos colaterais surgem secura da boca, diminuição das secreções sudoríparas, dificuldade de acomodação visual, vermelhidão e secura da pele, hipertermia, taquicardia, dificuldade de micção, alucinações e câimbras (principalmente em sobredose). Existe uma intensificação da atividade anticolinérgica por antidepressivos tricíclicos, amantadina e quinidina (Kommission E, 1985).

ESTRAMÔNIO

Nome científico: *Datura stramonium* L.

Família botânica: Solanaceae

Parte usada: folhas e sumidades floridas

Monografias farmacopéicas: está inscrita nas Farmacopéias de praticamente todos países; a Ph. Eur. III e as farmacopéias de países europeus apresentam também monografia para o pó normatizado das folhas.

Datura é um gênero com cerca de 11 espécies, originárias da América Central. Algumas espécies são utilizadas como alucinógenas, especialmente em ritos mágicos e religiosos, por indígenas americanos (Roth et al., 1988).

Datura stramonium é um arbusto ruderal anual, crescendo em solos ricos em nitrogênio, atingindo uma altura de até 2 m, originário da América Central, provavelmente do México, encontrando-se assilvestrado na Europa e nas Américas (Shonle e Bergelson, 2000). No Brasil recebe as denominações populares estramônio, figueira-do-inferno, erva-do-diabo e figueira-brava. A maioria da droga vem hoje da Rússia e dos países balcânicos. São utilizadas as seguintes variedades, consideradas de teor equivalente em alcalóides (Steinegger e Hänsel, 1992):

Datura stramonium var. *stramonium*, de flor branca e fruto espinhoso; *Datura stramonium* var. *tatula* (L.) Torr., de flor violeta e fruto espinhoso; *Datura stramonium* var. *inermis* (Jacq.) Timm, de flor branca e fruto liso; *Datura stramonium* var. *godroni* Danert, de flor violeta e fruto liso. A droga possui odor fraco, desagradável e sabor amargo (Steinegger e Hänsel, 1992).

Os principais constituintes das folhas, cápsulas imaturas e, especialmente sementes, são escopolamina e, em grande porcentagem, (-)-hiosciamina.

A principal utilização farmacêutica das espécies de *Datura* é como fonte de matéria-prima: *D. stramonium* L. para obtenção da atropina, enquanto *D. fastuosa* L. e *D. metel* L. são as principais fontes na obtenção de (-)-escopolamina (Steinegger e Hänsel, 1992). Preparados à base de estramônio são utilizados em alguns países em asma. No entanto, a utilização dessas preparações não se justifica, considerando os riscos e ausência de comprovação de eficácia (Kommission E, 1990). Essa utilização deriva do uso popular da folhas e mesmo flores secas na forma de cigarros.

Para alguns autores, as espécies arbóreas de *Datura* constituem a seção *Brugmansia* do gênero. As espécies de *Brugmansia* são perenes e originárias da América do Sul, sendo algumas largamente cultivadas como ornamentais. Produzem flores grandes, brancas, em forma de trombeta. Algumas delas constituem fonte potencial de escopolamina. *Brugmansia sanguinea* (Ruiz et Pavon) D. Don (= *Datura sanguinea* Ruiz et Pavon) é cultivada comercialmente no Equador em função da acumulação de alcalóides tropânicos (Evans, 1996).

Dados químicos:

A droga (folhas de estramônio) não deve conter menos de 0,25% de alcalóides, calculados em hiosciamina.

O estramônio contém, em média, 0,2 a 0,6% de alcalóides, sendo que a proporção entre os principais alcalóides hiosciamina e hioscina (escopolamina) é de 2:1. Os caules maiores contém pequena quantidade de alcalóides, sendo que a droga oficial não deve conter mais de 3% de caules com mais de 5 mm de diâmetro. Sementes de estramônio contém cerca de 0,2% de alcalóides tropânicos e aproximadamente 15 a 30% de óleo fixo. De acordo com a Ph. Eur. III, o pó final deve ser ajustado para um teor de alcalóides de 0,23 a 0,27%.

Na espécie são encontrados 4 a 6% de taninos, glicósidos flavonoides (rutina), ácidos orgânicos e a cumarina escopoletina (Wagner, 1982; Steinegger e Hänsel, 1992).

Dados farmacológicos e toxicológicos:

Em função da presença dos mesmos alcalóides, hiosciamina e escopolamina, as ações da droga são semelhantes às referidas para a beladona.

Intoxicações acidentais são de ocorrência rara, por não serem os frutos e folhas de aspecto atraente, ocorrendo, no entanto, pelo uso intencional para suicídio ou envenenamentos ou ainda como alucinógeno (Frohne e Pfänder,

1983). Em função da presença dos alcalóides hiosciamina e escopolamina, os sintomas de intoxicação são os mesmos da beladona.

TROMBETEIRA

Nome científico: *Brugmansia suaveolens* (Humb et Bonpl. ex Willd.) Bercht. et Presl.

Sinónímia científica: *Datura suaveolens* Humb. et Bonpl. ex Willd.

Família botânica: Solanaceae

Parte usada: folhas

Monografias farmacopéicas: F. Bras. II

Brugmansia suaveolens é uma espécie originária da América do Sul tropical, sendo mais conhecida em cultivo e utilizada no Brasil como ornamental. É conhecida como trombeteira-cheirosa, cartucheira, saia-de-velha, trombeta e saia-branca (Oliveira e Akisue, 1991), sendo considerada como uma fonte potencial de alcalóides tropânicos.

O teor de alcalóides tropânicos varia de 0,36 a 0,56%. Como o teor de escopolamina é bem maior que o de hiosciamina, todas as ações farmacológicas e tóxicas serão devidas àquele alcalóide. Os efeitos são os mesmos relatados para *Datura stramonium* L.

MEIMENDRO

Nome científico: *Hyoscyamus niger* L.

Família botânica: Solanaceae

Parte usada: folhas e sumidades floridas (Evans, 1996)

Monografias farmacopéicas: está inscrita nas Farmacopéias de praticamente todos países; a Ph. Eur. III e as farmacopéias de países europeus apresentam também monografia para o pó normatizado das folhas.

O meimendro já era conhecido por Dioscórides e utilizado pelos antigos. A espécie era empregada contra dores do trato gastrointestinal na antiga Babilônia e figura no papiro de Ebers (Font Quer, 1985). Foi utilizado na Inglaterra, na Idade Média. Depois de um período de esquecimento, no século XVIII a droga foi reintroduzida na *London Pharmacopeia*, de 1809. No Brasil, recebe as denominações populares meimendro-negro e erva-dos-cavalos (Oliveira e Akisue, 1991).

A espécie é uma erva anual ou bianual, nativa na Europa, Ásia e Norte da África; também é largamente cultivada e naturalizada em partes da América do Norte. Outras espécies utilizadas são *Hyoscyamus muticus* L., conhecida do Egito até a Índia e cultivada comercialmente na Califórnia, para obtenção de hiosciamina e *Hyoscyamus reticulatus* L., da Índia. É empregada principalmente em espasmos do trato gastrointestinal, sendo os efeitos indesejados e precauções semelhantes aos apontados para a beladona.

Dados químicos:

De acordo com a Ph. Eur. III, folhas de meimendro devem conter no

mínimo 0,05%, e o pó normatizado entre 0,05 e 0,07 de alcalóides totais, predominando hiosciamina e escopolamina. A relação entre os dois alcalóides é da ordem de 1,2:1. Estão presentes ainda flavonóides, principalmente rutina e cerca de 8% de taninos (Stahl e Schild, 1981).

Dados farmacológicos e toxicológicos:

O meimendo é semelhante à beladona e ao estramônio em sua ação, porém mais tênue, devido ao menor teor de alcalóides tropânicos. Intoxicações são relatadas, principalmente em crianças, mas com menor frequência em relação à beladona, porque a planta é, em geral, evitada pelo seu odor e consistência desagradáveis (Frohne e Pfänder, 1983).

COCA

Nome científico: *Erythroxylon coca* Lam. e *Erythroxylon novogranatense* (Morris) Hieron. var. *truxillense*.

Família botânica: Erythroxylaceae

Parte usada: folhas

Monografias farmacopéicas: *Erythroxylon coca* Lam. está inscrita nas Farmacopéias dos seguintes países: Brasil (1926), Chile (3 ed., 1941-1951), Egito (1953), França (IX ed. 1974), Índia (1955-1960), Indonésia (1965), Itália (1972), Paraguai (1944) (Penso, 1978).

Erythroxylon coca Lam. é a fonte das folhas de coca comercial, de onde toda cocaína é derivada. O cultivo ocorre nas zonas montanhosas do leste dos Andes, praticamente não existindo fora dessa região, em um ambiente tropical favorável, com alto índice pluviométrico, clima ameno e com solo rico em minerais e muito bem drenado. A coca andina é cultivada a partir de sementes e as folhas são coletadas após 2 a 3 anos. As folhas contêm entre 0,23 e 0,96% de cocaína. A coca colombiana, *Erythroxylon novogranatense* (Morris) Hieron., adapta-se a locais quentes e secos e de menor altitude. O teor médio de cocaína da coca colombiana é de 0,47%. A variedade *Erythroxylon novogranatense* (Morris) Hieron. var. *truxillense* constitui a coca-de-trujillo, existente no comércio, e está bem adaptada a condições de deserto. Suas folhas contêm até 1% de cocaína, sendo ricas em salicilato de metila, o que torna essa variedade muito agradável em bebidas. A coca-da-amazônia, *Erythroxylon coca* Lam. var. *ipadu* Plowman, ocorre no oeste da Amazônia, sendo cultivada e utilizada por grupos nativos do Peru, Brasil e Colômbia. *Ipadu* é o nome popular dos povos amazônicos para esta variedade. O teor de cocaína é de aproximadamente 0,4% (Griffin e Lin, 2000).

A importância dessas espécies e variedades está relacionada com a presença da cocaína, a qual foi isolada pela primeira vez por Niemann em 1860, que notou um sabor amargo e um efeito particular na língua, tornando-a insensível e quase destituída de sensação. O uso clínico da cocaína na Europa foi iniciado por Sigmund Freud e Karl Koller durante a segunda

metade do século XIX. É de se registrar que a Coca-Cola® e algumas outras bebidas continham cocaína até 1904, quando o uso da mesma foi proibido (Lewis, 1977).

Existem mais de 200 espécies de *Erythroxylon*, mas somente *Erythroxylon coca* Lam. var. *coca* (coca peruana), *Erythroxylon coca* Lam. var. *ipadu* (coca amazônica), *Erythroxylon novogranatense* (Morris) Hieron. var. *novogranatense* (coca colombiana) e *Erythroxylon novogranatense* (Morris) Hieron. var. *truxillense* (coca-de-trujillo) contêm quantidades consideráveis de cocaína. Essas espécies e variedades são cultivadas legal e ilegalmente no Peru, Colômbia, Bolívia e Indonésia para a obtenção da cocaína (Steinegger e Hänse, 1992; Evans, 1996; Ferreira et al., 1998). Diidroscougrina, cuscoigrina, metil ecgonina, tropacocaína, higrina, tropinona, *cis* e *trans*-cinamoilcocaína e truxilinas também são encontradas nas espécies citadas, em menor quantidade. *Erythroxylon coca* Lam., quando nativa, contém 0,0005% de cocaína ou, ainda, ausência (Griffin e Lin, 2000). A cocaína é o alcalóide majoritário, tanto nas espécies *Erythroxylon coca* Lam. como *Erythroxylon novogranatense* (Morris) Hieron., estando presente em aproximadamente 0,8% em relação à massa seca de folhas.

Através de estudos histoquímicos, citoquímicos e imunoquímicos, foi detectada cocaína nas camadas fotossintetizantes dos tecidos, dentro dos vacúolos ou complexada com fenóis, tanto em caules, como folhas e frutos de *Erythroxylon coca* Lam. e *Erythroxylon novogranatense* (Morris) Hieron. (Ferreira et al., 1998). Através do reagente de Dragendorff, a cocaína foi detectada por microscopia eletrônica em células do parênquima paliçádico, esponjoso, no parênquima vascular e em alguns idioblastos isolados do colênquima abaxial das duas espécies.

Dados químicos:

A espécie *Erythroxylon coca* Lam. contém de 0,2 a 0,8% de alcalóides, sendo 90% cocaína. Esses alcalóides podem ser subdivididos em 3, destes, somente a ecgonina possui importância comercial.

Um novo alcalóide, 1-hidróxi-tropacocaína, foi descoberto em *Erythroxylon novogranatense* (Morris) Hieron. var. *novogranatense* e var. *truxillense*. Uma análise por cromatografia gasosa mostrou níveis de 0,3 a 0,5% desse alcalóide em *Erythroxylon novogranatense* (Morris) Hieron. var. *truxillense*, cultivada em estufa, na mesma ordem de grandeza que a cocaína (Griffin e Lin, 2000).

A extração da cocaína segue basicamente os métodos de extração dos alcalóides. Obtém-se a pasta de coca e a cocaína pura, através de etapas subsequentes de purificação. Para a identificação da cocaína pode ser utilizada a reação de tiocianato de cobalto e a hidrólise em meio ácido, quando ocorre a formação de ácido benzóico, comprovado após sua cristalização em meio aquoso e benzoato de metila, detectado pelo odor. Como ensaio de pureza, as farmacopéias preconizam a verificação da presença do enantiômero levógi-

ro, através da determinação da rotação específica e a verificação da presença de cinamoilcocaína, através de teste para compostos redutores (solução de permanganato de potássio). Esse teste permite detectar, também, anestésicos locais sintéticos derivados do ácido 4-aminobenzoico, eventualmente utilizados como adulterantes da cocaína.

Dados farmacológicos:

A cocaína é absorvida a partir de todas as membranas e mucosas. A meia vida da cocaína no plasma é de, aproximadamente, 1 hora (Weiner, 1987). Aplicada localmente, bloqueia o início da condução do impulso nervoso. A diminuição do apetite também se deve à ação anestésica local.

A cocaína é um estimulante potente do sistema nervoso central. Os seus efeitos estimulantes estão relacionados à sua habilidade de inibir o transportador de dopamina, ligado à membrana (DAT) (Meltzer et al, 2001). Ela inibe a monoaminoxidase (MAO), aumentando a noradrenalina e a serotonina, causando, portanto, midríase e vasoconstrição periférica, mantendo o anestésico mais tempo no local.

Além das ações citadas, a cocaína inibe a recaptura de catecolaminas nas terminações adrenérgicas; esse processo é o principal responsável pela estimulação do sistema cardiovascular e do SNC. No início, ocorre uma sensação de bem estar e euforia. Após pequenas quantidades de cocaína, a atividade motora é bem coordenada; com o aumento da dose podem ocorrer tremores e crises convulsivas. Os centros vasomotor e do vômito podem também participar da estimulação, provocando emese. Dose de 50 mg de cocaína, por via oral, já provoca alucinações. A estimulação central é rapidamente seguida por depressão. Os centros medulares vitais são deprimidos, resultando em morte por insuficiência respiratória.

Dados toxicológicos e outras informações:

A cocaína por via endovenosa pode causar morte imediata por insuficiência cardíaca, devido à ação tóxica direta sobre o músculo cardíaco. A absorção da cocaína aumenta na presença de processos inflamatórios, havendo uma acentuação dos efeitos sistêmicos do fármaco. Após a absorção, a cocaína é degradada pelas esterases plasmáticas e, em alguns animais, pelas enzimas hepáticas. Pequenas quantidades são excretadas inalteradas na urina. Em doses elevadas ocorre paranóia, ansiedade, comportamento estereotipado, alucinações visuais, auditivas e táteis (Weiner, 1987).

A par da importância cultural e como droga de abuso neste século, historicamente a cocaína exerceu papel decisivo para o desenvolvimento dos medicamentos anestésicos locais, constituindo-se em protótipo dessa classe de fármacos. Atualmente, o uso da cocaína e seus sais, devido à potencial toxicidade e à disponibilidade de anestésicos locais de menor risco, está quase que completamente restrito à cirurgia oftálmica, de ouvido, nariz e garganta, e ainda assim, restrito devido ao potencial de abuso (Evans, 1996; Weiner, 1987).

10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BRACJET, A.; MATEUS, L.; CHERKAOUI, S.; CHRISTEN, P.; GAUVRIT, J.-Y.; LANTÉRI, P.; VEUTHEY, J.-L. Application of central composite designs in the supercritical fluid extraction of tropane alkaloids in plant extracts. *Analysis*, v. 127, p. 772-778, 1999.
- CUSIDO, R.M.; PALAZÓN, J.; PIÑOL, M.T.; BONFILL, M.; MORALES, C. *Datura metel*: in vitro production of tropane alkaloids. *Planta Medica*, v. 65, p. 144-148, 1999.
- DURAN-PATRON, R.; O'HAGAN, D.; HAMILTON, J.T.G.; WONG, C.W. Biosynthetic studies on the tropane ring system of the tropane alkaloids from *Datura stramonium*. *Phytochemistry*, v. 53, p. 777-784, 2000.
- EVANS, W.C. *Trease and evans' pharmacognosy*. 14.ed. London: W.B.Saunders, 1996. p. 340-408.
- FERREIRA, J.F.S.; DUKE, S.O.; VAUGHN, K.C. Histochemical and immunocytochemical localization of tropane alkaloids in *Erythroxylon coca* var. *coca* and *E. novogranatense* var. *novogranatense*. *Int. J. Plant Sci.*, v. 159, p. 492-503, 1998.
- FONT QUER, P. *Plantas medicinales. El dioscórides renovado*. Barcelona: Labor, 1985. 1033p.
- FRANZ, G.E.; KÖHLER, H. *Drogen und Naturstoffe: Grundlagen und Praxis der chemischen Analyse*. Berlin: Springer, 1992. p. 1-14.
- FROHNE, D.; PFÄNDER, H.J. *Giftpflanzen - Ein Handbuch für Apotheker, Ärzte, Toxikologen und Biologen*. Stuttgart: Wissenschaftliche, 1983. 290p.
- GRIFFIN, W.J.; LIN, G.D. Chemotaxonomy and geographical distribution of tropane alkaloids. *Phytochemistry*, v. 53, p. 623-637, 2000.
- HEGNAUER, R. *Chemotoxonomie der Pflanzen*. Basel: Birkhäuser, 1964 a 1990. v. 3, 6, 9.
- HOMES, H.L. The chemistry of the tropane alkaloids. In: MANSKE, R.H.F.; HOLMES, H.L. (ed.). *The alkaloids. Chemistry and physiology*. New York: Academic, 1950. v. I Chapter IV. p. 271-374.
- LEWIS, W.H.; ELVIN-LEWIS, M.P.F. *Medical botany. Plants affecting man's health*. New York: John Wiley, 1977. 515p.
- MANN, J.; DAVIDSON, R.S.; HOBBS, J.B.; BANTHORPE, D.V.; HARBORNE, J.B. *Natural products: their chemistry and biological significance*. Essex: Longman, 1994. p.395-404.
- MATEUS, L.; CHERKAOUI, S.; CHRISTEN, P.; VEUTHEY, J.-L. Capillary electrophoresis-diode array detection-electrospray mass spectrometry for the analysis of selected tropane alkaloids in plant extracts. *Electrophoresis*, v. 20, p. 3402-3409, 1999.
- MATEUS, L.; CHERKAOUI, S.; CHRISTEN, P.; OKSMAN-CALDENTEY, K.-M. Simultaneous determination of scopolamine, hyoscyamine and litorine in plants an different hairy root clones of *Hyoscyamus muticus* by micellar electrokinetic chromatography. *Phytochemistry*, v. 54., p. 517-523, 2000.
- MELTZER, P.C.; WANG, B.; CHEN, Z.; BLUNDELL, P.; JAYARAMAN, M.; GONZALEZ, M.D.; GEORGE, C.; MADRAS, B.K. Synthesis of 6- and 7-hydroxy-8-azabicyclo (3.2.1) octanes and the binding affinity for the dopamine and serotonin transporters. *J. Med. Chem.*, v. 44, p.2619-2635, 2001.
- NAKANISHI, F.; SASAKI, K.; SHIMOMURA, K. Isolation and identification of

- littorine from hairy roots of *Atropa belladonna*. *Plant Cell Rep.*, v. 18, p. 249-251, 1998.
- O'HAGAN, D. Pyrrole, pyrrolidine, pyridine, piperidine and tropane alkaloids. *Nat. Prod. Rep.*, v. 17, p. 435-446, 2000.
- O'HAGAN, D.; ROBINS, R.J. Tropic acid ester biosynthesis in *Datura stramonium* and related species. *Chem. Soc. Rev.*, v. 27, p. 207-212, 1998.
- OLIVEIRA, F.; AKISUE, G.; AKISUE, M.K. *Farmacognosia*. Atheneu: São Paulo, 1991. 426p.
- ORTEGA, G.G.; SCHENKEL, E.P.; ATHAYDE, M.L.; MENTZ, L.A. Brasilianische Phytotherapeutika. *Dtsch. Apoth. Ztg.*, v. 129, n. 35, p. 1847-1848, 1989.
- PENSO, G. *Inventory of medicinal plants used in different countries*. World Health Organization. 1978.
- ROBBERS, J.E.; SPEEDIE, M.K.; TYLER, V.E. *Pharmacognosy and pharmacobiotechnology*. Baltimore: Williams e Wilkins, 1996. p. 149-155.
- ROTH, L.; DAUNDARER, M.; KORMAN, K. *Giftpflanzen-Pflanzengifte*. 3. Aufl. Landsberg: Ecomed, 1988. 1119 p.
- SCHNEIDER, G. *Arzneidrogen-ein Kompendium für Pharmazeuten, Biologen und Chemiker*. Mannheim: Wissenschaft, 1990. cap. 30, p. 227-231.
- SCHÖNLE, I.; BERGELSON, J. Evolutionary ecology of the tropane alkaloids of *Datura stramonium* L. (Solanaceae). *Evolution*, v. 54, p. 778-788, 2000.
- STAHL, E.; SCHILD, W. *Pharmazeutische Biologie. 4. Drogenanalyse II: Inhaltsstoffe und Isolierungen*. Stuttgart: Gustav Fischer, 1981. 461p.
- STEINEGGER, E.; HÄNSEL, R. *Pharmakognosie*. 5. Aufl., Berlin: Springer, 1992. p. 506-518.
- TRIGO, J.R. The chemistry of antipredator defense by secondary compounds in neotropical Lepidoptera: facts, perspectives and caveats. *J. Braz. Chem. Soc.*, v. 11, p. 551-561, 2000.
- WAGNER, H. *Pharmazeutische Biologie. 2. Drogen und ihre Inhaltsstoffe*. 2. Aufl., Stuttgart: Gustav Fischer, 1982. 464p.
- WAGNER, H.; BLADT, S. *Plant drug analysis. A thin chromatography atlas*. 2.ed. Berlin: Springer, 1996. p.48-49.
- WEINER, N. Atropina, escopolamina e drogas correlatas. In: GILMAN, A.G.; GOODMAN, L.S.; RALL, T.W.; MURAD, F. (ed.). *Goodman e Gilman. As bases farmacológicas da terapêutica*. 7.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1987. cap. 7, p. 86-95.
- WICHTL, M. *Die pharmakognostisch-chemische Analyse*. Frankfurt: Akademische, 1971. 479p.

11. SUGESTÕES PARA LEITURA

- BRUNETON, J. *Elementos de fitoquímica y de farmacognosia*. Zaragoza: Acribia, 1991. p. 372-392.
- FRANZ, G.; KÖHLER, H. *Drogen und Naturstoffe: Grundlagen und Praxis der chemischen Analyse*. Berlin: Springer, 1992. p.1-14.
- MANN, J.; DAVIDSON, R.S.; HOBBS, J.B.; BANTHORPE, D.V.; HARBORNE, J.B. *Natural products: their chemistry and biological significance*. Essex: Longman, 1994. p.395-404.

ROBBERS, J.E.; SPEEDIE, M.K.; TYLER, V.E. *Pharmacognosy and pharmacobio-technology*. Baltimore: Williams e Wilkins, 1996. p. 149-155.

SCHNEIDER, G. *Arzneidrogen-ein Kompendium für Pharmazeuten, Biologen und Chemiker*. Mannheim: Wissenschaft, 1990. cap. 30, p. 227-231.

ALCALÓIDES INDÓLICOS

AUTORES

Jan Schripsema
Denise Dagnino
Grace Gosmann

SUMÁRIO DO CAPÍTULO

1. Introdução
2. Classificação
3. Biogênese
4. Quimiotaxonomia
5. Extração e purificação
6. Análise quantitativa
7. Propriedades biológicas
8. Emprego farmacêutico
9. Principais drogas vegetais:
 esporão-de-canteiro, fava-de-calabar,
 limbo, naja-vinosa, mucofita, vinca
10. Referências bibliográficas
11. Sugestões para leitura

1. INTRODUÇÃO

Atualmente, são conhecidos em torno de 2000 alcalóides indólicos. Essa classe de compostos pode ser subdividida em dois grupos: o grupo maior, com os alcalóides conhecidos como indólicos monoterpênicos, e um outro, com os demais alcalóides indólicos. Os primeiros são, na maioria das vezes, derivados de triptamina e do monoterpene (iridóide) secologanina. Apesar de quase todos os membros desse grupo serem derivados desses dois compostos, diversos rearranjos do esqueleto original resultaram numa enorme variedade estrutural, com grande número de centros assimétricos. Consequentemente, a síntese desses compostos continua sendo um desafio e quase todos os membros desse grupo usados na terapêutica ainda são obtidos a partir de extratos vegetais. A ocorrência desse grupo de alcalóides está limitada a somente algumas famílias específicas (ver item 4).

O grupo menor é muito heterogêneo e, com isso, tem ocorrência dispersa e menos característica do ponto de vista quimiosistemático. Estão enquadrados nesse grupo os derivados simples do triptofano, como a triptamina e a serotonina e também os derivados do harmato, que contêm mais um anel. Existem, também, estruturas características encontradas até hoje somente em um único gênero, como a fisostigmina, encontrada em *Physostigma* e os alcalóides do esporão-de-canteiro. Estes últimos, na verdade, não são produtos da planta, mas do fungo (*Claviceps purpurea*) que a parasita.

Em razão de importantes atividades biológicas, diversos alcalóides indólicos estavam entre os primeiros compostos isolados de plantas. Mas, devido às estruturas complexas (especialmente dos alcalóides indólicos monoterpênicos), a determinação de suas estruturas era difícil e demorada. Assim, a estricnina foi isolada em 1818 por Pelletier e Caventou, mas a estrutura correta só foi proposta quase 140 anos (e 270 publicações!) após o seu isolamento.

Atualmente, os alcalóides indólicos possuem grande importância econômica devido às suas atividades farmacológicas. Podem ser citadas a vincristina e a vinblastina, que são antineoplásicos importantes; a ergotamina que é um importante fármaco contra a enxaqueca; a ajmalicina e a ioimbina, fármacos usados em distúrbios do fluxo sanguíneo e a reserpina como antidepressivo. Mais recentemente, a ibogaína vem atraindo atenção por apresentar resultados promissores, em animais, no tratamento da dependência de drogas.

Devido às novas técnicas espectroscópicas, em especial à ressonância magnética nuclear (RMN), a elucidação estrutural desses compostos foi enormemente facilitada. Também a biossíntese é bastante conhecida, sendo que várias enzimas foram isoladas e caracterizadas e, até mesmo, clonadas.

2. CLASSIFICAÇÃO

Os alcalóides indólicos podem ser classificados de acordo com as características de seu esqueleto, que estão diretamente relacionadas à sua biogênese.

Em 1965, quando eram conhecidos em torno de 350 alcalóides indólicos monoterpênicos, Le Men e Taylor propuseram um sistema de numeração para esses compostos baseado na sua biogênese sendo, hoje em dia, o sistema de numeração aceito. A numeração baseia-se no esqueleto da ioimbina (figura 1). Esses autores distinguiram, naquela época, três classes de alcalóides indólicos monoterpênicos.

Classe I: ioimbinóide

Classe II: iboga

Classe III: aspidosperma

Em 1980, Kisakürek e Hesse subdividiram os alcalóides indólicos monoterpênicos em oito classes (classes 1 a 8, ver a seguir). Van Beek (1984) ampliou essa classificação, adicionando mais três classes. Foram criadas uma classe para um novo arranjo de esqueleto de alcalóides indólicos monoterpênicos, descoberto após a classificação de Kisakürek e Hesse (a classe Tacamano), uma classe para os alcalóides indólicos monoterpênicos diméricos e uma classe para todos os demais alcalóides indólicos monoterpênicos. As onze classes podem ser subdivididas de acordo com variações menores no esqueleto básico. Van Beek e Van Gessel (1988) distinguiram 46 subclasses nas 11 classes existentes.

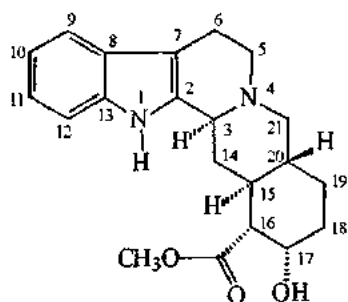


Figura 1. loimbina com o sistema de numeração aceito, baseado na biogênese e proposto por Le Men e Taylor (1965).

Cada classe possui as seguintes características:

1. C - corinanteano, unidade C-2,C-3,C-14 e ligação entre N-4 e C-21 ou unidade C-7,C-3,C-14, ligação entre N-4 e C-21, e a função C-2-oxo.
2. D - vicosano, unidade C-2,C-3,C-14, HN-4 livre ou ligação entre N-4 e C-19 ou entre N-4 e C-18.
3. V - valesiachotamano, unidade C-2,C-3,C-14, ligação entre N-4 e C-17 ou entre N-4 e C-22.
4. S - estricano, unidade C-2,C-16,C-15, ligação entre C-3 e C-7.
5. A - aspidospermatano, unidade C-2,C-16,C-15, sem ligação entre C-3 e C-7.
6. E - eburnano, unidade N-1,C-16,C-17,C-20.
7. P - plumerano, unidade C-2,C-16,C-17,C-20.
8. I - ibogano, unidade C-2,C-16,C-17,C-14 ou C-7,C-16,C-17,C-14 e a função C-2-oxo.
9. T - tacamano, unidade N-1,C-16,C-17,C-14.
10. bis-indol
11. diversos

Na figura 2, cada classe é representada por uma única estrutura, sendo indicada, também, a relação biossintética entre as classes.

A maior parte dos outros alcalóides indólicos podem ser organizados nas seguintes classes (Goodwin e Mercer, 1983):

1. bases simples, que são derivados simples do triptofano, produtos da sua desaminação, descarboxilação, metilação e/ou hidroxilação. Exemplos são triptamina (figura 2), serotonina (figura 8) e psilocibina (figura 5);
2. β -carbolinas têm como característica em comum a presença de mais um anel de seis membros, sendo também conhecidos como alcalóides do tipo harmano. Um exemplo é o alcalóide harmina (figura 7) e

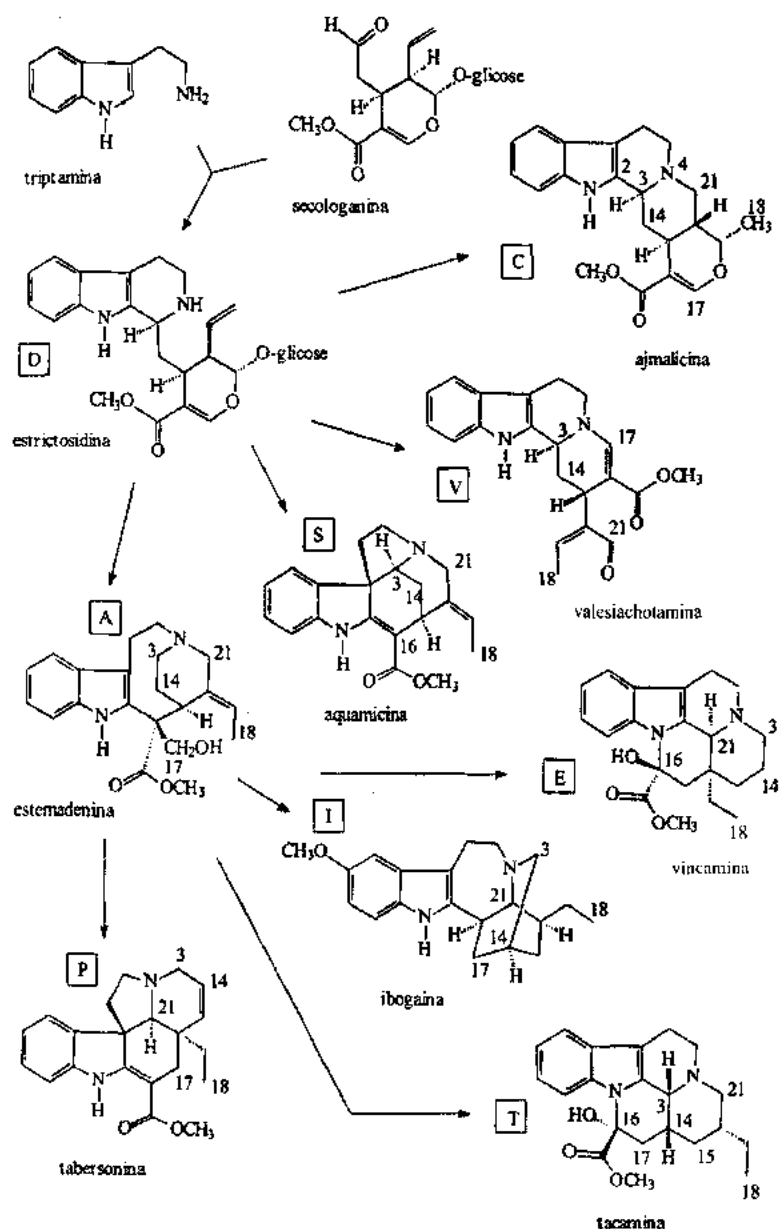


Figura 2. Relação biossintética das classes de alcalóides indólicos monoterpênicos. Uma única estrutura está sendo utilizada para a representação de cada classe. As letras indicam as seguintes classes: C - corinanteano, D - vincosano, V - valesiachotamano, S - estricano, A - aspidospermatano, E - eburnano, P - plumerano, I - ibogano, e T - tacamano

3. alcalóides do esporão-do-centeio, que possuem como característica em comum a presença do sistema de anéis denominado ergolínico (figura 10 e 11).

3. BIOGÊNESE

O sistema indólico é derivado do aminoácido L-triptofano. O L-triptofano é descarboxilado pela enzima triptofano-descarboxilase formando triptamina (figura 3). A triptamina, bem como seus produtos de metilação e hidroxilação, são amplamente distribuídos no reino vegetal.

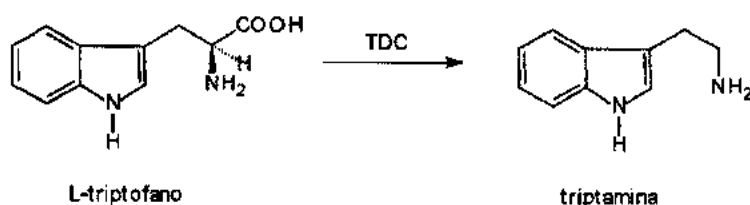


Figura 3. A reação promovida pela enzima triptofano-descarboxilase (TDC).

Os alcalóides indólicos monoterpênicos são, quase sempre, produtos de condensação da triptamina com o secoiridóide secologanina, que é formado a partir do monoterpene pirofosfato de geranila (ver capítulo “Metabolismo básico e origem dos metabólitos secundários”). A condensação de triptamina com secologanina é catalisada pela enzima strictosidina sintase formando strictosidina, um alcalóide glicosilado (Figura 2). Por sua vez, a eliminação da glicose presente na strictosidina, pela strictosidina glicosidase, forma um produto instável, cuja estrutura ainda não foi esclarecida. A transformação desse intermediário, através de reações ainda não bem caracterizadas, leva à formação das várias classes dos alcalóides indólicos monoterpênicos. A partir dessa etapa, pouco se sabe sobre os detalhes das rotas biossintéticas que levam à formação dos vários compostos e somente alguns compostos de grande importância farmacológica, como a vincristina e a vinblastina (figura 17), tiveram as últimas etapas da sua biossíntese investigada.

Várias enzimas que participam da biogênese dos alcalóides indólicos foram estudadas em detalhe. A triptofano-descarboxilase (TDC) de várias espécies foi isolada e caracterizada. Essa enzima contém 500 aminoácidos possuindo uma massa molecular em torno de 56 kDa. A regulação do gene foi estudada extensivamente, sendo este introduzido em espécies dos gêneros *Brassica* (Brassicaceae), *Nicotiana* e *Solanum* (Solanaceae). Outras enzimas isoladas e caracterizadas foram geraniol-10-hidroxilase, strictosidina sintase, strictosidina glicosidase e desacetilvindolina-4-hidroxilase (uma enzima do final da rota biossintética da vindolina).

Uma revisão recente sobre a biossíntese dos alcalóides indólicos monoterpênicos, suas enzimas e compartimentalização, foi escrita por Kutchan (1998).

Durante a formação dos alcalóides do tipo harmano (β -carbolinas), a triptamina é condensada com acetato. Esses alcalóides apresentam um anel de seis membros adicional. Alguns compostos possuem um anel aromático piridínico, outros têm um anel di-hidroaromático ou tetra-hidroaromático.

Os alcalóides do esporão-de-centeio são formados a partir da condensação de L-triptofano com o hemiterpeno pirofosfato de dimetilalila. A prenilação ocorre no carbono 4 do triptofano e é catalisada pela enzima dimetilalil triptofano sintase, que foi isolada e caracterizada de *Claviceps purpurea* (Gebler e Poulter, 1992). Após essa reação ocorre a formação do núcleo ergolíneo, típico desses alcalóides. Ergometrina e ergotamina (figura 10 e 11) são formadas a partir do ácido lisérgico, pela condensação com peptídeos específicos.

4. QUIMIOTAXONOMIA

A maioria dos alcalóides indólicos são encontrados em três famílias da ordem Gentianales: Loganiaceae, Apocynaceae e Rubiaceae (Leeuwenberg, 1980). Nessa ordem são encontrados principalmente alcalóides indólicos monoterpênicos. A ocorrência de alcalóides indólicos fora desta ordem é bastante rara e, quando encontrados, são normalmente alcalóides indólicos simples.

Os alcalóides do tipo harmano também são bastante comuns e podem ser encontrados em diversas famílias (como Apocynaceae, Chenopodiaceae, Elaeagnaceae, Leguminosae, Loganiaceae, Passifloraceae, Polygonaceae, Rubiaceae, Symplocaceae e Zygophyllaceae), sendo que sua ocorrência não tem grande significado do ponto de vista quimiosistemático.

Na família Apocynaceae podem ser encontradas todas as classes de alcalóides indólicos monoterpênicos. Nas famílias Rubiaceae e Loganiaceae não são encontradas as classes aspidospermatano, eburnano, plumerano e ibogaano. Na família Rubiaceae também não são encontrados os alcalóides da classe estricnano, sendo encontrados os alcalóides quinolínicos, que são produtos do rearranjo dos alcalóides indólicos monoterpênicos e os alcalóides isoquinolínicos, cujo esqueleto é formado pela condensação de tiramina e seco-loganina originando os alcalóides do tipo emetina.

5. EXTRAÇÃO E PURIFICAÇÃO

5.1. Detecção no vegetal

Alcalóides, como já diz o nome, são compostos básicos geralmente solúveis em soluções aquosas ácidas e insolúveis em soluções básicas. Pode-se, então, obter uma fração contendo alcalóides por uma simples extração

ácido-base. Para a sua detecção podem ser usados os reagentes normalmente utilizados para a detecção de alcalóides como, por exemplo, reagente de Dragendorff, iodoplatinato de potássio ou o reagente de Mayer (Stahl, 1970): o reagente de Dragendorff é uma solução de $K(BiI_4)$ em ácido diluído e forma precipitados laranja-avermelhados, frequentemente utilizado para detecção em CCD; o reagente de Mayer é uma solução de $K_2(HgI_4)$ e origina precipitados brancos quando em contato com soluções de alcalóides; iodoplatinato de potássio forma manchas violeta a azul acinzentadas quando utilizado como reagente cromogênico em CCD.

5.2. Métodos de Extração e Purificação

Para extração de alcalóides indólicos (monoterpênicos), podem ser utilizados os métodos normalmente usados para outros alcalóides. A fração contendo os alcalóides é normalmente obtida por um procedimento que inclui uma extração ácido-base (ver capítulo “Alcalóides: generalidades e aspectos básicos”).

Geralmente, o material seco é extraído com solventes orgânicos ou com água acidificada. Quando a extração é feita com solventes orgânicos imiscíveis com água, como éter e clorofórmio o material é normalmente alcalinizado antes de ser extraído. Essa alcalinização não é essencial para os alcalóides com pK_a ao redor de 7; no entanto, a extração do material sem a prévia alcalinização requer a umidificação do material para que haja uma extração eficiente (Schripsema, resultados não publicados). Com isso, é possível obter um fracionamento dos alcalóides, extraíndo-se o material antes e após a alcalinização (Schripsema e Verpoorte, 1992).

Outra alternativa é a extração do material seco com solventes orgânicos miscíveis com a água, como etanol ou metanol. Esse é o método mais frequentemente utilizado. Os extratos obtidos dessa forma costumam conter uma enorme quantidade de impurezas (comparando com os extratos obtidos usando solventes imiscíveis com a água), como açúcares e aminoácidos. Apesar disso, esse método é utilizado com frequência devido à sua praticidade. O extrato é posteriormente seco e depois fracionado entre uma fase aquosa acidificada e uma fase orgânica imiscível com água. Uma nova extração é realizada com solvente orgânico imiscível com água (geralmente clorofórmio) após a alcalinização da fase aquosa obtida.

A escolha do ácido usado no fracionamento do extrato vegetal é importante: a formação de pares iônicos deve ser evitada. Ácido acético e ácido clorídrico podem formar pares iônicos bastante solúveis em clorofórmio. Portanto o uso desses ácidos pode diminuir a eficiência da extração. Uma boa escolha é o ácido fosfórico diluído (pH 1 a 2), que não gera pares iônicos solúveis em clorofórmio.

A alcalinização da fase aquosa deve alcançar pH entre 9 e 10 sendo que o hidróxido de amônio é usado com frequência. Em certos casos, no entanto, isso pode levar à formação de artefatos, pois a amônia reage facilmente com grupamentos aldeído. Exemplos de artefatos formados após a adição de amônia são gentianino, formado a partir do iridóide sverosídeo, e angustina (Figura 4), formada a partir de estrictosamida. Portanto, a amônia deve ser, de preferência, substituída por outra base, como o carbonato de sódio (Na_2CO_3). Hidróxidos alcalinos produzem soluções básicas muito fortes e devem ser evitados para diminuir o risco de degradação.

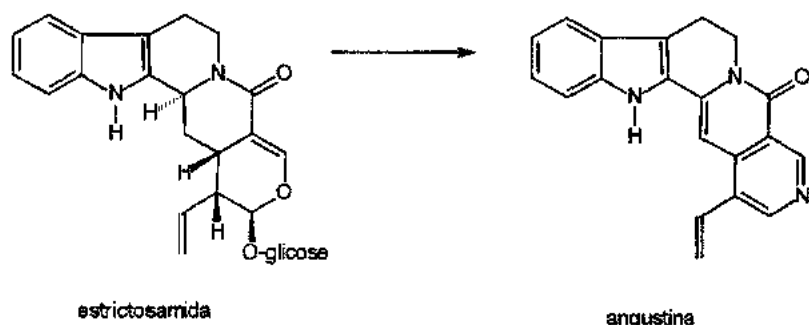


Figura 4. Angustina, um artefato de estrictosamida.

Vários métodos podem ser usados para a purificação dos alcalóides. O método utilizado com maior frequência para a purificação dos alcalóides é a cromatografia em coluna de gel de sílica através da qual os alcalóides são eluídos com misturas de um solvente polar em um solvente apolar, sendo que a concentração do primeiro é aumentada gradualmente (como, por exemplo, etanol em tolueno). Alguns solventes devem ser evitados durante a cromatografia em coluna devido ao risco de formação de artefatos. A acetona, por exemplo, converte os alcalóides 3-hidróxi-iboga em derivados 3-(2'-oxopropil)-iboga. Clorofórmio e éteres não-distilados levam facilmente à formação de N-óxidos e hidróxi-indoleninas, enquanto que o diclorometano pode levar à formação de derivados clorometilênicos quaternários (Phillipson e Bisset, 1972). A cromatografia por exclusão tem sido usada com sucesso na separação dos alcalóides diméricos dos demais, o que é geralmente mais difícil por cromatografia de adsorção.

Nas últimas etapas da purificação, ou quando as quantidades de alcalóide são reduzidas, CCD ou CLAE preparativas são utilizadas.

5.2.1. CCD - Cromatografia em Camada Delgada

A cromatografia em camada delgada (CCD) é um método usual para o isolamento de alcalóides indólicos por ser relativamente barato e requerer

poucos equipamentos. Além disso, o método é útil para a identificação de compostos conhecidos, presentes em misturas. Uma revisão extensa da literatura sobre CCD foi escrita por Baerheim Svendsen e Verpoorte (1983). O adsorvente usado com maior frequência é gel de sílica. Devido ao caráter ligeiramente ácido desse adsorvente, os alcalóides frequentemente deixam rastros durante a eluição. Isso pode ser evitado adicionando-se base ao eluente ou impregnando a base no adsorvente. Outra possibilidade é a eluição dos alcalóides na forma de sal, usando eluentes polares e ácidos.

Os alcalóides podem ser detectados por diversos métodos como pela observação da extinção da luz ultravioleta em 254 nm, em placas de sílica com indicador de fluorescência. Também a detecção de fluorescência em 366 nm pode ser útil por ser muito sensível para diversos alcalóides como, por exemplo, os alcalóides do esporão-de-centeio.

Além dos reagentes já citados para detecção de alcalóides, existem outros reagentes que são úteis para a detecção de alcalóides indólicos monoterpênicos, como os reagentes FCPA (3,25% FeCl_3 em 35% HClO_4) e CSSA (1% CeSO_4 em 10% H_2SO_4) (Van Beek et al., 1984). Esses reagentes são menos específicos, pois reagem com outras classes de compostos; no entanto, apresentam cores variadas de acordo com os diferentes alcalóides. A coloração dos alcalóides é observada logo após a aplicação do reagente sobre a placa cromatográfica e, também, após aquecimento curto, médio e prolongado. A fluorescência dos compostos após o aquecimento deve ser igualmente verificada.

Um estudo extenso do comportamento de alcalóides indólicos monoterpênicos em vários eluentes e as suas reações com os reagentes citados anteriormente foi publicada por Van Beek et al. (1984). Os eluentes usados estão listados na tabela 1.

TABELA 1

Eluentes utilizados para a análise por CCD de alcalóides indólicos monoterpênicos (Van Beek et al., 1984).

Código dos sistemas eluentes	Eluentes
S1	ciclohexano : clorofórmio : dietilamina (6:3:1)
S2	tolueno : etanol absoluto contendo 1,74 % g/v amônia (19:1)
S3	clorofórmio : metanol (9:1)
S4	acetato de etila : isopropanol : 26 % g/v amônia (17:2:1)

5.2.2. CLAE- Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

Quando disponível, a CLAE é um excelente método para a quantificação de alcalóides indólicos, facilitado pela forte absorção do núcleo indólico na região do ultravioleta, o que torna o método bastante sensível. A CLAE pode ser acoplada a um detector de feixe de fotodiodos, o que permite a ob-

tenção de espectros dos compostos detectados no cromatograma. Assim sendo, pode-se obter os espectros dos diversos componentes de uma mistura, o que torna o método atrativo, apesar da menor sensibilidade desse tipo de detector. Alguns alcalóides indólicos monoterpênicos podem ser detectados por fluorescência, método ainda mais sensível e específico.

O espectro ultravioleta é característico para cada tipo de cromóforo encontrado nas diferentes classes de alcalóides indólicos. Além disso, o padrão de substituição dos anéis aromáticos pode ser facilmente determinado a partir do espectro UV (Verpoorte e Schripsema, 1994).

As colunas cromatográficas utilizadas atualmente para análise de alcalóides indólicos são quase exclusivamente de fase reversa (normalmente C_{18}). Para a análise de alcalóides, é importante que as colunas tenham um alto grau de enchimento do adsorvente para obter boa resolução na cromatografia. Vários fabricantes oferecem colunas especiais para a separação de compostos básicos. Outra alternativa é o uso de modificadores básicos que podem ser adicionados ao eluente.

Uma revisão extensa sobre o uso de CLAE para análise e separação de alcalóides é encontrada em Verpoorte e Baerheim Svendsen (1984).

CLAE também tem sido utilizada em combinação com espectrometria de massas, o que permite a rápida identificação de compostos de uma mistura. Avanços no desenvolvimento de interfaces entre CLAE e o espectrômetro de massas e o uso de microssistemas de CLAE têm tornado este método cada vez mais rotineiro.

5.2.3. CG - Cromatografia Gasosa

Até recentemente, a CG não era considerada um método adequado para a análise de alcalóides indólicos monoterpênicos não-derivatizados, devido ao seu alto peso molecular e baixa volatilidade. Estudos mais recentes (Dagnino et al., 1991) mostraram que esse método é adequado para a análise de um grande número desses compostos. A grande vantagem da CG é a sua alta sensibilidade, alto poder de resolução e a possibilidade de acoplamento fácil a um espectrômetro de massas. Isso permite a detecção de traços de compostos em uma mistura complexa. O cromatógrafo gasoso acoplado ao espectrômetro de massas também mostrou-se muito útil em estudos de biossíntese desses compostos (Dagnino et al., 1993; Dagnino, 1995).

Algumas desvantagens dessa metodologia são a impossibilidade de analisar alcalóides diméricos, alcalóides glicosilados e compostos menos estáveis, como aqueles contendo grupamentos aldeído.

Devido aos problemas inerentes ao método, a análise quantitativa por GC, só deve ser feita após um cuidadoso estudo da linearidade do método para os diversos compostos de interesse.

6. ANÁLISE QUANTITATIVA

Para a análise quantitativa de alcalóides, são utilizados, tradicionalmente, os seguintes métodos (Auterhoff, 1980):

a) isolamento do alcalóide na sua forma básica por uma extração ácido-base. A quantificação pode ser feita por simples pesagem ou por titulação com base após a dissolução dos alcalóides em meio ácido;

b) depois de dissolvido na forma de sal em uma mistura de etanol e clorofórmio, o alcalóide é titulado com hidróxido alcalino usando como indicador fenolftaleína;

c) titulação com ácido perclórico em ácido acético glacial e

d) devido à absorção característica do núcleo indólico (máximos de absorção em torno de 210 e 280 nm), os alcalóides indólicos podem ser quantificados por espectroscopia no ultravioleta (UV). A metodologia mais precisa combina uma separação por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) com a detecção por UV.

7. PROPRIEDADES BIOLÓGICAS

Muitos alcalóides indólicos têm atividade biológica importante. Várias plantas que contêm estes compostos são, há muito tempo, consideradas tóxicas devido à forte atividade desses compostos. A atividade dos alcalóides indólicos é, geralmente, mediada pela sua interação com um ou mais receptores específicos.

Muitos alcalóides indólicos atuam como agonistas ou antagonistas parciais nos receptores α -adrenérgico, serotoninérgico, colinérgico e dopaminérgico. As diferentes atividades dos vários compostos se devem, aparentemente, às diferenças de atividade frente aos vários receptores e pela maneira que cada um interage com os diferentes receptores. Já que cada classe de receptor possui diversos sub-tipos, com diferente sensibilidade aos vários compostos, a gama de atividades dos alcalóides indólicos em diferentes órgãos é enorme.

A seguir, serão citados alguns exemplos de alcalóides indólicos e suas principais atividades.

Vários alcalóides indólicos, como psilocibina (figura 5), LSD (figura 6), dimetiltriptamina e derivados do harmano (figura 7) possuem uma marcante atividade alucinógena. A psilocibina é o princípio ativo do cogumelo *Psilocybe mexicana*, que já era usado pelos Astecas. LSD foi sintetizada a partir do ácido lisérgico, por Hofmann em 1943, e tornou-se uma droga alucinógena notória.

Alcalóides do tipo harmano, especialmente harmina e harmalina, são os substâncias ativas de espécies de *Banisteriopsis* como *Banisteriopsis caapi*

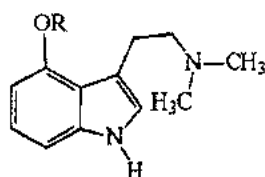


Figura 5. Psilocibina ($R = PO_3H_2$) e psilocina ($R = H$)

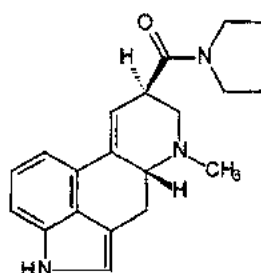


Figura 6. LSD (lisérgida)

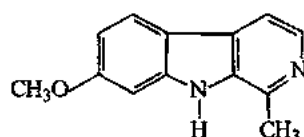


Figura 7. Harmina

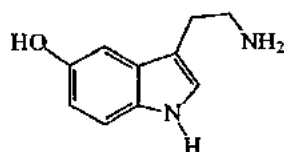


Figura 8. Serotonina

(Spruce ex Griseb.) C.V.Morton e *Banisteriopsis inebrians* C.V.Morton (Malphigiaceae). Essas espécies são usadas em rituais pelos índios na Amazônia. Frequentemente, os extratos dessas plantas são misturados a extratos de *Psychotria viridis* Ruiz et Pav. que contém *N,N*-dimetiltriptamina.

Todos esses compostos interagem especificamente com os receptores para serotonina (5-hidróxi-triptamina, figura 8), o neurotransmissor endógeno do cérebro.

Outros alcalóides atuam especialmente no sistema cardiovascular, como os alcalóides do esporão-de-centeio, ioimbina, reserpina e ajmalicina. Maiores detalhes sobre esses alcalóides podem ser encontrados no item 9. A atividade desses compostos é resultado de uma interação complexa com os receptores α -adrenérgicos, serotoninérgicos e dopaminérgicos. A ação vasoconstritora dos alcalóides do esporão-de-centeio se deve à sua interação com os receptores α -adrenérgicos que controlam a contração dos músculos lisos dos vasos sanguíneos. A ioimbina é mais um inibidor seletivo dos receptores α -2-adrenérgicos, um agente simpatolítico cujos efeitos mais pronunciados são a vasodilatação dos vasos sanguíneos periféricos. A reserpina, presente em *Rauvolfia serpentina* (L.) Benth. ex. Kurz, age diminuindo o nível de catecolaminas e serotonina no sistema nervoso central e outros órgãos, levando a uma queda da pressão sanguínea, devido à diminuição da resistência periférica e da frequência cardíaca após administração crônica. A diminuição dos mediadores a nível central explicaria a ação sedativa e neuroléptica.

Vários alcalóides indólicos possuem atividade antitumoral como a elipticina (de *Ochrosia* sp., Apocynaceae) e olivacina (isolada de várias espécies dos gêneros *Aspidosperma* e *Tabernaemontana*, Apocynaceae) (figura 9). Esses compostos inibem a síntese de ADN, ARN e proteínas, provavelmente por intercalação na dupla hélice do ADN e por ligação com ácidos nucleicos. Devido à alta toxicidade, esses compostos não são usados na terapêutica.

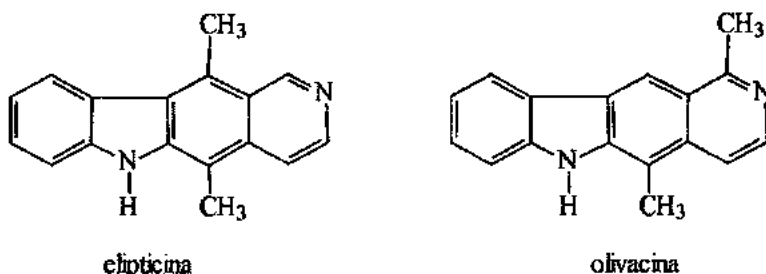


Figura 9. Elipticina e olivacina

Os alcalóides diméricos de *Catharanthus*, vincristina e vinblastina (figura 17) são usados na terapia de várias doenças neoplásicas. Esses alcalóides causam parada da divisão celular durante a metáfase devido à sua ligação específica com a tubulina, inibindo a sua polimerização (ver capítulo “Produtos de origem vegetal e o desenvolvimento de medicamentos”).

Ibogaína (figura 2) atraiu muita atenção na última década devido às suas propriedades na diminuição dos efeitos causados pela abstinência de drogas. Em vários estudos realizados com animais, a ibogaína diminuiu a auto-administração de drogas mas o seu mecanismo de ação ainda é desco-

nhecido. Outros estudos são necessários para estabelecer a utilidade da ibogaína na terapia, e uma extensa revisão do assunto é apresentada por Popik e Skolnick (1999).

8. EMPREGO FARMACÊUTICO

As drogas vegetais são raramente utilizadas na terapia devido à variação do conteúdo de seus componentes ativos. Dessa maneira, os alcalóides indólicos são quase sempre utilizados na sua forma purificada, o que possibilita a sua dosagem precisa.

9. PRINCIPAIS DROGAS VEGETAIS:

ESPORÃO-DE-CENTEIO (*Secale cornutum*)

Nome científico: *Claviceps purpurea* (Fries) Tulasne

Família: Clavicipitaceae – Classe: Ascomycetes

Parte utilizada: esclerócio recolhido sobre a espiga de centeio

Monografias farmacopéicas: Ph. Fr. VIII, Farm. Bras. II

Diversos cereais podem ser parasitados pelo fungo *Claviceps purpurea* (Ascomycetes), conhecido como ergô. O centeio (*Secale cereale* L., Poaceae) é o mais suscetível. Esse fungo produz alcalóides derivados da ergolina e a droga oficial é aquela obtida a partir do centeio (Stoll e Hofmann, 1965).

O esporão-de-centeio deve conter no mínimo 0,15% de alcalóides totais, calculados em ergotamina e no mínimo 0,023% dos alcalóides solúveis em água, calculados em ergometrina, enquanto que o pó de esporão-de-centeio estabilizado deve conter entre 0,19 e 0,21% de alcalóides totais, calculados em ergotamina e entre 0,027 e 0,033% dos alcalóides solúveis em água, calculados em ergometrina, segundo a Farm. Bras. II.

O esporão-de-centeio é uma droga que foi utilizada para acelerar partos (no fim do século 16) até que seus efeitos tóxicos foram reconhecidos, e reservada, então, a partir do século 19, para hemorragias pós-parto.

Na Idade Média, em todos os países europeus, houve intoxicações em proporções epidêmicas pela ingestão de farinha de centeio infestada pelo fungo. A intoxicação crônica é chamada de ergotismo o qual pode se apresentar em duas formas: o gangrenoso (resultante do comprometimento da circulação das extremidades) e o convulsivo (comprometimento do Sistema Nervoso Central, com a ocorrência de convulsões frequentes). A etiologia correta do ergotismo, como intoxicação pelo esporão-de-centeio, e seu ciclo de desenvolvimento só foram confirmados no século 19. No século 20 também ocorreram epidemias esporádicas de ergotismo, entre as quais uma na França e outra na Etiópia em 1951, onde morreram dezenas de pessoas (Teuscher e Lindequist, 1994).

As substâncias ativas obtidas exerceram importante papel para o desenvolvimento da farmacologia, especialmente com relação ao sistema nervoso autônomo, através da investigação da ação da ergotamina, fundamental para estabelecer o conceito de bloqueador alfa-adrenérgico. As substâncias isoladas e ainda obtidas do esporão-do-centeio com importância terapêutica atual são a ergotamina e a ergometrina (Farm. Bras. II, Ph. Eur. III, USP 23).

Os alcalóides do ergô podem ser obtidos por cultura de cepas selecionadas através de infestação artificial de cereais ou por fermentação industrial em meio sintético.

Dados químicos:

As substâncias ativas são os alcalóides ergolínicos e seu conteúdo é muito variável (0,3 a 1%). Os alcalóides se dividem em dois grupos: as amidas simples do ácido lisérgico (20% do total de alcalóides), cujo alcalóide majoritário é a ergometrina (figura 10) e as ergopeptinas, isto é, peptídeos do ácido lisérgico, como a ergotamina (figura 11) e a ergotoxina, uma mistura de ergocomina, ergocriptina e ergocristina.

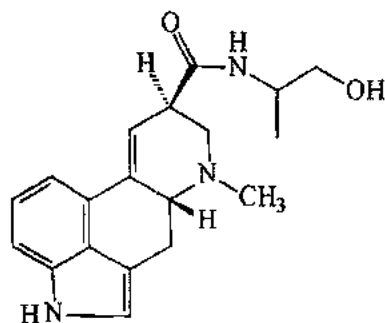


Figura 10. Ergometrina

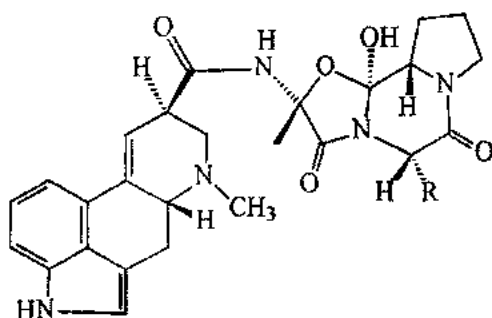


Figura 11. Ergotamina R= benzila

Foram preparados vários derivados semi-sintéticos, como a metilergometrina, di-hidroergotamina, metisergida, nicergolina, di-hidroergotoxina, bromocriptina, lisurida, lisergida (LSD).

Dados farmacológicos e toxicológicos:

Os alcalóides do esporão-de-centeio são relacionados estruturalmente com as aminas biogênicas como a norepinefrina, dopamina e serotonina e, devido a esta semelhança estrutural, interagem com os receptores dessas aminas exercendo efeitos agonistas e antagonistas. Devido às diferentes afinidades de cada receptor, os alcalóides do ergô possuem ações farmacológicas complexas. A ergotamina, por exemplo, atua sobre o sistema cardiovascular, devido à ação simultânea na vasoconstrição do sistema periférico, depressão de centros vasomotores e bloqueio adrenérgico periférico.

Os sintomas da intoxicação são chamados de ergotismo, caracterizado pela insuficiência arterial periférica, náusea, vômitos, parestesia, temperatura fria da epiderme da pele, e pulso fraco.

A DL_{50} da droga em humanos é estimada em 5 a 10 g v.o., enquanto que a DL_{50} da ergotamina em humanos é de 10 mg v.o. (Teuscher e Lindequist, 1994).

Emprego terapêutico:

A droga é utilizada para obtenção dos alcalóides ergometrina, ergotamina e ácido lisérgico, a partir dos quais são preparados derivados. No Brasil, são encontrados no mercado medicamentos antieméticos com di-hidroergotamina, ergotamina e metisergida, isoladamente ou em associação com outros fármacos, como ácido acetilsalicílico, cafeína, metoclopramida e paracetamol.

Como estimulante uterino, são utilizadas no Brasil a ergometrina e metilergometrina.

A ergometrina (também conhecida como ergonovina) apresenta propriedades de contração intensa dos músculos lisos uterinos, e essa ação é mais prolongada que a da ocitocina. Entre os alcalóides do ergô, é a ergometrina que possui maior atividade no útero. É contra-indicada para pacientes com disfunções cardíaca, hepática e renal, hipertensão e problemas vasculares. Ergometrina é útil na prevenção e tratamento de hemorragia pós-parto e pós-aborto devido à atonia uterina, após a expulsão da placenta (McDonald et al., 1993; MacIntosh e Erskine, 1994).

A ergotamina é o fármaco de escolha no tratamento da dor de cabeça tipo enxaqueca, não sendo indicada para profilaxia da mesma devido à sua toxicidade, da mesma forma que a sua administração prolongada não é recomendável. É um potente vasoconstritor, mas pode produzir vasodilatação, dependendo do grau de resistência dos vasos sanguíneos. O efeito de vasoconstrição da ergotamina pode estar relacionado com sua ação nos receptores da serotonina. Além disso, possui atividade estimulante uterina. Revisões recentes sobre o emprego terapêutico e efeitos adversos da ergotamina são encontrados em Lipton (1997), Saper (1997) e Young (1997).

Derivados semi-sintéticos:

a) metilergometrina é a amida do ácido lisérgico e do 2-aminobutanol, sendo mais ativa na musculatura uterina que a ergotamina, e com pequena atividade alfa-adrenolítica;

b) metisergida foi importante para identificar que agonistas serotoninérgicos são os responsáveis pela ação em enxaqueca levando ao desenvolvimento de fármacos menos tóxicos para seu tratamento (com menores efeitos sobre o sistema cardiovascular), como a sumatriptana;

c) nicergolina: devido à sua ação alfa-adrenolítica, é um vasodilatador cerebral, sendo preconizada para problemas de atenção e memória em pacientes idosos. A nicergolina e di-hidroergocristina são comercializadas no Brasil com as mesmas indicações terapêuticas;

d) 2-bromo-ergocriptina-ou bromocriptina- é inibidor da lactação e, devido à ação semelhante à dopamina, é também indicada para o tratamento do mal de Parkinson, em casos em que o paciente não responde mais ao tratamento com levodopa (Ninomiya e Kiguchi, 1990).

FAVA-DE-CALABAR

Nome científico: *Physostigma venenosum* Balf.

Família botânica: Leguminosae (Fabaceae)

Parte utilizada: semente

Monografia farmacopéica: Ph. Bras. I

A fava-de-calabar é um cipó originário do Golfo da Guiné (Nigéria, Camarões e Gabão), cujas sementes eram utilizadas pelos nativos da África Ocidental para decidir o julgamento de criminosos suspeitos. Aqueles que bebiam o extrato aquoso da droga e não morriam eram considerados inocentes- isso somente acontecia se a bebida era ingerida a largos goles o que provocava vômitos pelo seu efeito irritante. Somente em 1875, após o isolamento da fisostigmina, foi demonstrada sua utilidade no tratamento do glaucoma (Laqueur, 1877).

Dados químicos:

A (-)-fisostigmina (figura 12) - ou eserina - é o éster fenólico do ácido *N*-metilcarbâmico sendo isolada e denominada como tal em 1864 por Jobst e Hesse. Na tentativa de aumentar a estabilidade da fisostigmina (um monometilcarbamato) à hidrólise, diversos derivados dimetilcarbamatos foram sintetizados, como a neostigmina e piridostigmina. Esses apresentaram-se mais efetivos que a fisostigmina no tratamento da miastenia grave, pois este último alcalóide tem curta duração. A fisostigmina é, também, o protótipo de inseticidas do tipo carbamatos, ditos inibidores irreversíveis da acetilcolinesterase.

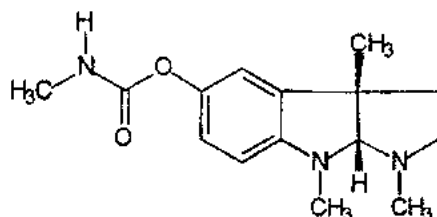


Figura 12. (-)-fisostigmina

Dados farmacológicos:

Fisostigmina é uma amina terciária, inibidor reversível da acetilcolinesterase, que passa facilmente pela barreira hemato-encefálica causando efeitos colinérgicos, o que pode ser utilizado para inibir os efeitos centrais e periféricos de agentes anticolinérgicos (Burks et al, 1974). Neostigmina e piridostigmina são também inibidores da colinesterase; no entanto, são bases quaternárias e não passam facilmente pela barreira hemato-encefálica, atuando, portanto, predominantemente, em nível periférico (Takano e Ogasawara, 1989).

Emprego terapêutico:

A fisostigmina (Ph. Eur. III, USP 23), devido aos sérios efeitos adversos como ataque cardíaco e parada cardíaca, é atualmente de uso restrito ao emprego na oftalmologia. Ao uso oftálmico estão relacionadas a lacrimação, miose, sensação de queimadura ocular e dor de cabeça. É utilizada, também, para reverter os efeitos da intoxicação grave por anticolinérgicos.

A neostigmina e piridostigmina (figura 13) são comercializados no Brasil como antiastênicos, assim chamados porque sua indicação principal é no diagnóstico e tratamento da miastenia grave e, ainda, em atonia pós-operatória da musculatura lisa do intestino e bexiga.

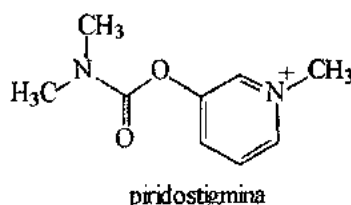
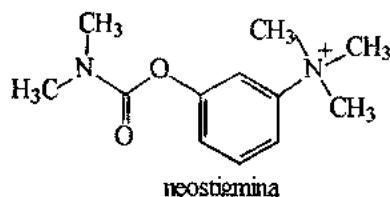


Figura 13. Neostigmina e piridostigmina

IOIMBE

Nome científico: *Pausinystalia yohimbe* (K. Schum.) Pierre ex Beille

Sinônimo científica: *Corynanthe yohimbe* K. Schum.

Família botânica: Rubiaceae

Parte utilizada: cascas do tronco

É uma árvore encontrada nas florestas da República de Camarões, Gabão e Congo. Em 1890, foi observado o uso de extratos da casca da árvore pela população nativa do Camarões no tratamento da impotência. Em 1896, o alcalóide ioimbina foi isolado. Posteriormente (1914), foi demonstrado que ioimbina era idêntica à quebrachina, isolada anteriormente de *Aspidosperma quebracho-blanco* Schldl. (Apocynaceae). Curiosamente, essa planta também era usada na medicina tradicional local (na Argentina, Bolívia e Brasil) como afrodisíaco.

Dados químicos:

Apresenta 1 a 6% de alcalóides totais, principalmente alcalóides indólicos do tipo ioimbano, sendo que a ioimbina (figura 1) é majoritária. Apresenta, ainda, hetero-ioimbanos, como ajmalicina e derivados tetracíclicos.

O cloridrato de ioimbina, também denominado cloridrato de quebrachina ou cloridrato de corinina, está inscrito na Farm. Bras. II e na OAB 1990.

Dados farmacológicos:

A ioimbina é um inibidor seletivo dos receptores alfa-2-adrenérgicos. É, portanto, um agente simpatolítico. Em doses fracas, é um hipertensor e, em doses maiores, é um hipotensor e vasodilatador das regiões vasculares periféricas. Sua ação sobre a musculatura lisa determina um aumento do tônus e dos movimentos dos intestinos.

Emprego terapêutico:

O cloridrato de ioimbina tem sido utilizado na impotência masculina e na hipotensão ortostática e ortostática induzida pelos antidepressivos tricíclicos. É contra-indicada na insuficiência hepática e renal e, em doses elevadas, ocasiona queda da pressão arterial, excitação do SNC, náuseas e vômitos.

Uma meta-análise dos efeitos da ioimbina sobre a disfunção erétil em humanos foi publicada recentemente. Nessa análise, sete estudos controlados foram realizados com 49 homens e mostraram um efeito superior da ioimbina comparado com o do placebo. Na maioria dos casos, foram necessárias de três a quatro semanas (5 a 10 mg, 3 a 4 doses diárias) para obter o efeito máximo (Ernst e Pittler, 1998).

NOZ-VÔMICA

Nome científico: *Strychnos nux-vomica* L.

Família botânica: Loganiaceae

Parte utilizada: semente

Monografias farmacopéicas: Chin. Ph. 1990, Farm. Bras. II, OAB 1990, Ph. Fr. X, Ph. Jpn. 12

A noz-vômica é uma árvore do sudeste asiático introduzida na Europa no século 16 para eliminar animais indesejáveis, principalmente como rodenticida.

A droga deve conter, no mínimo, 1,2% de estricnina, é inodora e de sa-

bor extremamente amargo (Farm. Bras. II). A estricnina também faz parte da Farm. Bras. II.

Extratos de noz-vômica foram utilizados para diversos distúrbios, incluindo os gastrintestinais e debilidade física (Hoehne, 1939).

Dados químicos:

É interessante referir que as espécies asiáticas de *Strychnos* têm como constituintes químicos de seus frutos a estricnina e brucina (alcalóides terciários) (figura 14), enquanto que as espécies sul-americanas, conhecidas na obtenção dos curares, apresentam alcalóides quaternários bis-indólicos como a C-toxiferina, nas cascas e raízes. Por outro lado, nas espécies africanas de *Strychnos* foram encontrados tanto alcalóides do tipo curare quanto estricnina (Massiot e Delaude, 1988).

A noz-vômica possui de 1 a 3 % de alcalóides totais dos quais a estricnina é majoritária juntamente com a brucina, seu derivado dimetoxilado.

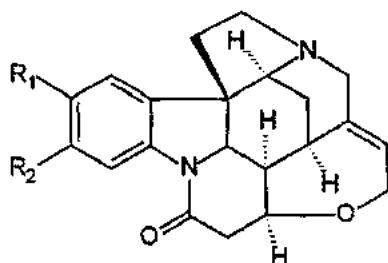


Figura 14. Estrictina ($R_1=R_2=H$) e brucina ($R_1=R_2=OCH_3$)

Dados farmacológicos:

Tanto as espécies da África e Ásia como as da América do Sul são tóxicas e se caracterizam pela paralisia dos músculos estriados. Os curares, no entanto, são bloqueadores neuromusculares, causando, inicialmente, debilidade muscular e, em seguida, flacidez dos músculos (relaxantes musculares). Já a estricnina é um estimulante medular e bulbar e a sua intoxicação assemelha-se aos sintomas do tétano, como ansiedade, alta sensibilidade ao ruído e luz, e crises convulsivas periódicas. A morte advém da asfixia pela contração do diafragma. Outro fato importante é que, enquanto os curares são muito mais ativos por via parenteral- o que explica a ingestão impune, pelos indígenas, da caça obtida com flechas envenenadas, a estricnina apresenta atividade biológica também por via oral.

O uso terapêutico da noz-vômica não é justificável devido aos seus riscos e seu interesse reside na obtenção da estricnina, utilizada em estudos de laboratório da excitabilidade muscular e para o ensaio biológico de anticonvulsivantes e relaxantes musculares de ação central.

RAUVÓLFIA

Nome científico: *Rauvolfia serpentina* (L.) Benth. ex Kurz

Família botânica: Apocynaceae

Parte utilizada: raiz

Monografias farmacopéicas: DAB 10, Farm. Bras. II, USP 23

A raúvólfia é uma planta que foi utilizada pela medicina popular hindu nas mordidas de serpentes, doenças mentais e epilepsia. A aplicação da raiz no tratamento de psicoses e hipertensão foi descrita pela primeira vez por Sen e Bose (1931) em uma revista médica indiana. No entanto, o uso terapêutico da droga em larga escala foi iniciado somente após o isolamento de reserpina em 1952 e após a retomada de pesquisas de seus efeitos. Devido à grande procura pela droga, o governo indiano foi forçado a proibir a exportação da planta para evitar a sua extinção, sendo que pouco depois ela passou a ser cultivada.

A raúvólfia deve conter no mínimo 1% de alcalóides totais, é quase inodora e possui sabor amargo (Farm. Bras. II).

A indústria extrativa utiliza também outras espécies de raúvólfia como *Rauvolfia vomitoria* Afzel., da África (7 a 10% em alcalóides) e *Rauvolfia tetraphylla* L. originária do norte da América do Sul e da América Central.

Dados químicos:

Os alcalóides totais (0,5 a 2,5%) são uma mistura complexa; mais de 50 alcalóides foram isolados de *Rauvolfia*. Esses alcalóides podem ser divididos nos grupos:

1-derivados do tipo ioimbano: reserpina (figura 15) e rescinamina, principalmente;

2-derivados do tipo hetero-ioimbano: possuem anel E heterocíclico, como a ajmalicina (figura 2) e também bases quaternárias, como a serpentina (=3,4,5,6-tetradés-hidro-ajmalicina);

3-derivados indólicos, principalmente ajmalina (figura 16).

Dados farmacológicos:

A reserpina é um efetivo anti-hipertensivo usado no tratamento da hipertensão leve a moderada. Age diminuindo o nível de catecolaminas e serotonina no SNC e em outros órgãos. Doses repetidas de reserpina são cumulativas porque o nível tecidual das catecolaminas é retomado lentamente. A queda da pressão sanguínea se deve à diminuição da resistência periférica e da frequência cardíaca após administração crônica e a diminuição dos mediadores ao nível central explicaria a ação sedativa e neuroléptica. A rescinamina e deserpidina têm a mesma atividade. Juntamente com a clorpromazina, a reserpina inaugurou a classe dos neurolépticos, medicamentos específicos para psicoses agudas com agitação, gerando uma revolução no tratamento psiquiátrico.

Emprego terapêutico:

Preparações farmacêuticas contendo o extrato têm sido preconizadas no tratamento de hipertensão leve e são de emprego terapêutico limitado, consi-

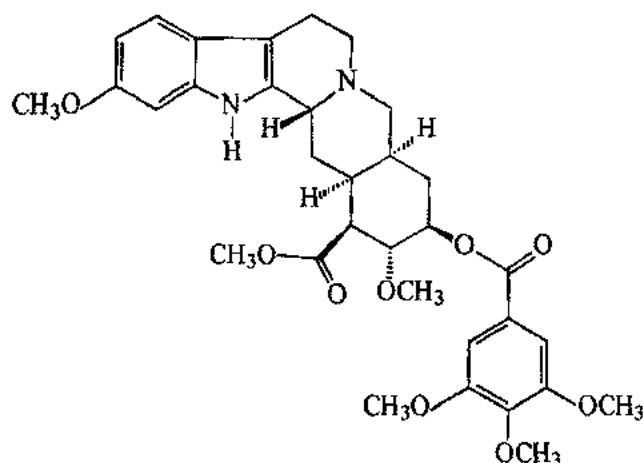


Figura 15. Reserpina

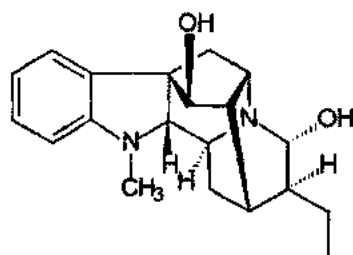


Figura 16. Ajmalina

derando a complexidade da mistura de alcalóides presentes nesse extrato (Blumenthal, 1998). Os alcalóides da rauvólfia são considerados como agentes anti-hipertensivos suplementares e não são recomendados, em geral, na monoterapia inicial do controle da pressão sanguínea. As rauvólfias são utilizadas para extração de alcalóides, principalmente da reserpina. A ajmalicina é obtida, também, das partes subterrâneas de diversas espécies de *Catharanthus*.

A reserpina (inscrita nas Farmacopéias Européia 1997 e USP 23) é, entre os alcalóides da rauvólfia, o mais utilizado, sendo mais efetivo quando utilizado em associação com um diurético para prevenir a retenção sódica e edema. Entre os principais efeitos adversos da reserpina, podem ser citados hipotensão, depressão do SNC, sonolência e hipotermia. Como a depressão é um efeito adverso relacionado com a dose, a menor dose possível deve ser administrada, sendo que não deve ser utilizada por pacientes com histórico de episódios depressivos ou úlcera péptica (Anon, 1982). A reserpina foi uti-

lizada no tratamento de várias disfunções psiquiátricas, mas foi abandonada com o aparecimento de fármacos mais efetivos e seguros. O emprego terapêutico, efeitos adversos e comparação com outros anti-hipertensivos, podem ser encontrados nas revisões de Magarian (1991) e Fraser (1996). No Brasil, entre os alcalóides da raúvófia, só a reserpina é comercializada isolada ou em associação com hidroclorotiazida, diidralazina, clortalidona ou furosemida.

A ajmalicina ou raubasina é um vasodilatador relacionado quimicamente com a reserpina, utilizado em distúrbios vasculares periféricos e cerebrais.

A ajmalina é um antiarrítmico, com efeitos similares ao da quinidina. Devido aos riscos de agranulocitose, a ajmalina não é o medicamento de escolha.

VINCA

Nome científico: *Catharanthus roseus* (L.) G. Don

Sinonímia científica: *Vinca rosea* L.

Família botânica: Apocynaceae

Parte utilizada: partes aéreas

Monografia farmacopéica: Ph. Fr. X

A vinca é um subarbusto tropical originário de Madagascar, bastante cultivado e utilizado como planta ornamental em todo o mundo.

Os alcalóides isolados da vinca, principalmente vincristina e vimblastina, foram decisivos para incentivar a pesquisa no desenvolvimento de novos fármacos, devido tanto ao seu mecanismo de ação único quanto à pouca resistência cruzada entre esses e às inúmeras modificações estruturais possíveis (ver capítulo “Produtos de origem vegetal e o desenvolvimento de medicamentos”). Um esforço importante foi realizado no isolamento e elucidação

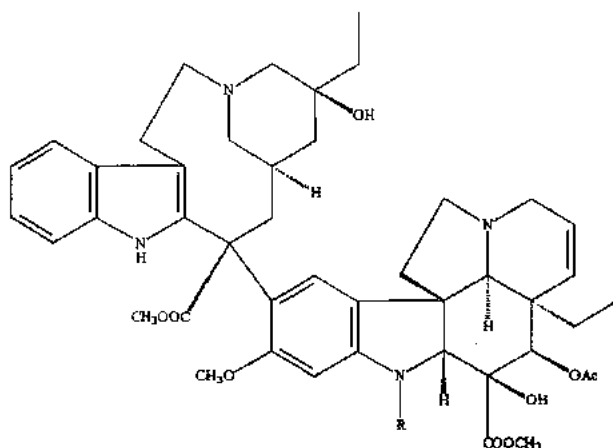


Figura 17. Vincristina (R= CHO) e vimblastina (R= CH₃)

estrutural dos numerosos alcalóides presentes em *Catharanthus*, no estudo de sua biossíntese e na cultura de células vegetais, tendo como objetivo a obtenção ou a produção de alcalóides mais ativos e menos tóxicos (Brossi e Suffness, 1990; Kutney, 1990).

As partes aéreas são utilizadas na extração de alcalóides antitumorais (0,2 a 1% de alcalóides totais), enquanto que a raiz seca é fonte industrial de ajmalicina.

Dados químicos:

As partes aéreas têm uma mistura complexa de alcalóides indólicos cujos alcalóides principais, quanto à utilização terapêutica, são os alcalóides bis-indólicos vincristina e vimblastina (figura 17) (Ph. Eur. III, USP 23).

No entanto, esses alcalóides são constituintes minoritários da mistura, o que torna sua purificação difícil e cara. Nas raízes, o principal alcalóide é a ajmalicina. Além desses alcalóides, mais de cem outros foram isolados de plantas e cultura *in vitro* de *Catharanthus*.

Derivados semi-sintéticos:

1-vindesina é a desacetilvincalécoblastinamida, obtida a partir da vimblastina pela desacetilação e substituição da carboximetila na parte vindolina por uma carboxamida.

2-vinorrelbina é obtida por semi-síntese a partir da catarantina e vindolina presentes na vinca. (Mangeney et al., 1979; Brossi e Suffness, 1990)

Dados farmacológicos:

Esses alcalóides causam parada da divisão celular na metáfase pela ligação específica com a tubulina e inibem sua polimerização (Pratt et al., 1994). Pequenas diferenças na estrutura desses compostos resultam em diferenças notáveis da toxicidade e espectro antitumoral. Mais notável é a ausência de resistência cruzada entre os alcalóides da vinca. Além disso, muitos alcalóides diméricos com estruturas relacionadas não possuem atividade biológica.

Emprego terapêutico:

No Brasil, a vimblastina, a vincristina e a vinorrelbina são comercializados atualmente.

A vimblastina em associação com outros quimioterápicos é importante no tratamento de diferentes linfomas, como o de Hodgkin, o sarcoma de Kaposi, câncer de ovário e tumores do testículo. Os principais efeitos adversos são leucopenia e trombocitopenia, sendo que os distúrbios gastrintestinais como náusea e vômitos são menos frequentes. Apresenta menor neurotoxicidade que a vincristina (Husson e Becker, 1995).

A vincristina é utilizada, principalmente, no tratamento da leucemia linfoblástica aguda infantil em diferentes esquemas quimioterápicos. Como efeito adverso, é relatada neurotoxicidade como parestesias e fraquezas musculares. Pode causar leve leucopenia e trombocitopenia. Outros efeitos incluem constipação, náusea, vômitos e alopecia. Diferentes revisões podem

ser consultadas quanto ao seu uso terapêutico, farmacocinética e toxicidade (Pratt et al., 1994).

A vinorelbina é eficaz, principalmente, no tratamento de câncer de mama e ovários e nos cânceres ditos não de pequenas células. No entanto, a experiência clínica com vinorelbina é pequena, sendo necessários maiores dados em relação à sua eficácia e segurança. Por isso, diferentes esquemas quimioterápicos com vimblastina e vincristina são, ainda, de primeira escolha para o tratamento de diversos tumores. Apresenta os mesmos efeitos adversos dos anteriores, mas parece apresentar menor neurotoxicidade que os alcalóides da vinca (Cvitkovic e Izzo, 1992, Marty et al., 1992; Sorensen, 1992). As alterações estruturais na porção catarantina determina propriedades antimetabólicas mais específicas, assim como o aumento da lipofilia (Cvitkovic e Izzo, 1992). Revisões do uso terapêutico e eficácia podem ser encontrados em Cvitkovic e Izzo (1992) e Budman (1997).

10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANONIMOUS Participating Veterans Administration Medical Centers. Low doses versus standard dose of reserpine. A randomized, double-blind, multiclinic trial in patients taking chlorthalidone. *JAMA*; n. 248, p. 2471-2477, 1982.
- AUTERHOFF, H. *Lehrbuch der pharmazeutischen Chemie*. 10 Aufl., Stuttgart: Wissenschaftliche, 1980.
- BAERHEIM SVENDSEN, A.; VERPOORTE, R. *Chromatography of alkaloids, part A: Thin-layer chromatography*. Amsterdam: Elsevier, 1983. *J. Chromatography Library*, v. 23.
- BLUMENTHAL, M. (ed.) *The complete german commission E monographs- therapeutic guide to herbal medicines*. Austin: American Botanical Council, 1998.
- BROSI, A.; SUFFNESS, M. (ed.). *The alkaloids- antitumor bisindole alkaloids from Catharanthus roseus (L.)*. San Diego: Academic, 1990. v. 37.
- BUDMAN D. R. Vinorelbine (Navelbine R): a third-generation vinca alkaloid. *Cancer Invest.*, v. 15, p. 475-490, 1997.
- BURKS, J. S.; WALKER, J. E.; RUMACK, B. H.; OTT, J. E. Tricyclic antidepressant poisoning. Reversal of coma, choreoathetosis and myoclonus by physostigmine. *JAMA*, v. 230, p. 1405, 1974.
- CVITKOVIC, E.; IZZO, J. The current and future place of vinorelbine in cancer therapy. *Drugs*, v. 44, (suppl 4), p. 36-45, 1992.
- DAGNINO, D. S. *Alkaloid metabolism in plant cell suspension cultures with special emphasis on product breakdown*. Leiden: Leiden University, 1995. Ph.D. Thesis. 80 p.
- DAGNINO, D. S.; SCHRIPEMA, J.; PELTENBURG, A.; VERPOORTE, R.; TEUNIS, K. Capillary gas chromatographic analysis of indole alkaloids: Investigation of the indole alkaloids present in *Tabernaemontana divaricata* cell suspension culture. *J. Nat. Prod.*, v. 54, p. 1558-1563, 1991.
- DAGNINO, D. S.; SCHRIPEMA, J.; VERPOORTE, R. Alkaloid metabolism in *Tabernaemontana divaricata* cell suspension cultures. *Phytochemistry*, v. 32, p. 325-329, 1993.

- ERNST, E.; PITTLER, M. H. Yohimbine for erectile dysfunction: a systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials. *J. Urol.*, v. 159, p. 433-436, 1998.
- FRASER, H. S. Reserpine: a tragic victim of myths, marketing, and fashionable prescribing. *Clin. Pharmacol. Ther.*, v. 60, p. 368-373, 1996.
- GEBLER, J. C.; POULTER, C. D. Purification and characterization of dimethylallyl tryptophan synthase from *Claviceps purpurea*. *Arch. Biochem. Biophys.*, v. 296, p. 308-313, 1992.
- GOODWIN, T. W.; MERCER, E. I. *Introduction to plant biochemistry*. 2.ed. Oxford: Pergamon, 1983.
- HOEHNE, F. C. *Plantas e substâncias vegetais tóxicas e medicinais*. São Paulo: Novos Horizontes, 1978. reimpressão de 1939.
- HUSSON, M.-C.; BECKER, A. (coord.). *Médicaments anticancéreux- de la préparation à la administration optimisation*. Paris: EMI, 1995.
- KISAKÜREK, M. V.; HESSE, M. Chemotaxonomic studies of the Apocynaceae, Loganiaceae and Rubiaceae, with reference to indole alkaloids. In: PHILLIPSON, J.D., ZENK, M.H. (ed.). *Indole and biogenetically related alkaloids*. London: Academic, 1980.
- KUTCHAN, T. M. Molecular genetics of plant alkaloid biosynthesis. In: CORDELL, G.A. (ed.). *The alkaloids*. London: Academic, 1998. v. 50, p. 257-316.
- KUTNEY, J. P. Biosynthesis and synthesis of indole and bisindole alkaloids in plant cell cultures: a personal overview. *Nat. Prod. Rep.*, v. 7, p. 85-104, 1990.
- LAQUEUR, L. *Arch. Ophthalmol.*, v. 23, p. 149, 1877, *apud* SNEADER, W. *Drug prototypes and their exploitation*. Chichester: John Wiley, 1996. p.124-125.
- LEEUEWENBERG, A. J. M. The taxonomic position of some genera in the Loganiaceae, Apocynaceae, and Rubiaceae, related families which contain indole alkaloids. In: PHILLIPSON, J. D.; ZENK, M. H. (ed.). *Indole and biogenetically related alkaloids*. London: Academic, 1980. p. 1-10.
- LE MEN, J.; TAYLOR, W. I. A uniform numbering system for indole alkaloids. *Experientia*, v. 21, p. 508-510, 1965.
- LIPTON, R. B. Ergotamine tartrate and dihydroergotamine mesylate: safety profiles. *Headache*, v. 37, (suppl 1), p. S33-S41, 1997.
- MAGARIAN, G. J. Reserpine: A relic from the past or a neglected drug of the present for achieving cost containment in treating hypertension? *J. Gen. Intern. Med.*, v. 6, p. 561-572, 1991.
- MANGENEY, P.; ANDRIAMIALISOA, R. Z.; LALLEMAND, J.-Y.; LANGLOIS, N.; LANGLOIS, Y.; POTIER, P. 5'-nor-anhydrovinblastine, prototype of a new class of vinblastine derivatives. *Tetrahedron*, v. 35, p. 2175-2179, 1979.
- MARTY, M.; EXTRA, J. M.; DIERAS, V.; GIACCHETTI, S.; OHANA, S.; ESPIE, M. A review of the antitumour activity of vinorelbine in breast cancer. *Drugs*, v. 44, (suppl 4), p. 29-35, 1992.
- MCDONALD S. J.; PRENDIVILLE, W. J.; BLAIR, E. Randomised controlled trial of oxytocin alone versus oxytocin and ergometrine in active management of third stage of labour. *BMJ*, v. 307, p. 1167-1171, 1993.
- MACINTOSH, M. C. M.; ERSKINE, K. J. Managing the third stage of labour. *BMJ*, v. 308, p. 59, 1994.
- MASSIOT, G.; DELAUDE, C. African *Strychnos* alkaloids. In: BROSSI, A. (ed.). *The alkaloids- chemistry and pharmacology*. San Diego: Academic, 1988. v. 34. p.211-329

- NINOMIYA, I.; KIGUCHI, T. Ergot alkaloids. In: BROSSI, A. (ed.). *The alkaloids-chemistry and pharmacology*. San Diego: Academic, 1990. v. 38. p.1-156.
- PHILLIPSON, J. D.; BISSET, N. G. Quaternisation and oxidation of strychnine and brucine during plant extractions. *Phytochemistry*, v. 11, p. 2547-2553, 1972.
- POPIK, P.; SKOLNICK, P. Pharmacology of ibogaine and ibogaine related alkaloids. In: CORDELL, G. A. (ed.). *The alkaloids*. London: Academic, 1999. v. 52, p.197-231.
- PRATT, W. B.; RUDDON, R. W.; ENSMINGER, W. D.; MAYBAUM, J. *The anti-cancer drugs*. 2.ed. New York: Oxford, 1994.
- SAPER, J. R. Diagnosis and symptomatic treatment of migraine. *Headache*, v. 37, (suppl 1), p. S1-S14, 1997.
- SCHRIPSEMA, J.; VERPOORTE, R. Search for factors related to the indole alkaloid production in cell suspension cultures of *Tabernaemontana divaricata*. *Planta Medica*, v. 58, p. 245-249, 1992.
- SEN, G.; BOSE, K. C. *Rauwolfia serpentina*, a new Indian drug for insanity and high blood pressure. *Indian Med. World*, v. 2, p. 194-201, 1931.
- SORENSEN, J. B. Vinorelbine: a review of its antitumour activity in lung cancer. *Drugs*, v. 44, (suppl 4), p. 60-65, 1992.
- STAHL, E. *Chromatographische und mikroskopische Analyse von Drogen*. Stuttgart: Gustav Fischer, 1970.
- STOLL, A.; HOFMANN, A. The ergot alkaloids. In: MANSKE, R. H. F. (ed.). *The alkaloids- chemistry and physiology*. New York: Academic, 1965. v. 8.
- TAKANO, S.; OGASAWARA, K. Alkaloids of the calabar bean. In: BROSSI, A. (ed.). *The alkaloids- chemistry and pharmacology*. San Diego: Academic, 1989. v. 36. p.225-251.
- TEUSCHER, E.; LINDEQUIST, U. *Biogene Gifte*. Stuttgart: Gustav Fischer, 1994.
- VAN BEEK, T. A.; VAN GESSEL, M. A. J. T. Alkaloids of *Tabernaemontana* Species. In: PELLETIER, S. W. (ed.). *Alkaloids: chemical and biological perspectives*. New York: John Wiley, 1988. v. 6.
- VAN BEEK, T. A. *Pharmacognostical studies of some Tabernaemontana species*. Leiden: Leiden University, 1984. Ph.D. Thesis. 164 p.
- VAN BEEK, T. A.; VERPOORTE, R.; BAERHEIM SVENDSEN, A. Identification of *Tabernaemontana* alkaloids by means of thin-layer chromatography and chromogenic reactions. *J. Chromatogr.*, v. 298, p. 289-307, 1984.
- VERPOORTE, R.; BAERHEIM SVENDSEN, A. *Chromatography of alkaloids, part B: Gas-liquid chromatography and high-performance liquid chromatography*. Amsterdam: Elsevier, 1984. J. Chromatography Library, v. 23B.
- VERPOORTE, R.; SCHRIPSEMA, J. Isolation, identification and structure elucidation of alkaloids. In: LINSKENS, H. F.; JACKSON, J. F. *Modern methods of plant analysis, Alkaloids*. Heidelberg: Springer, 1994. v. 15, p. 1-20.
- YOUNG, W. B. Appropriate use of ergotamine tartrate and dihydroergotamine in the treatment of migraine: current perspectives. *Headache*, v. 37, (suppl. 1), p. S42-S45, 1997.

11. SUGESTÕES PARA LEITURA

- BROSSI, A.; SUFFNESS, M. (ed.) *The alkaloids- antitumor bisindole alkaloids from Catharanthus roseus (L.)*. San Diego: Academic, 1990. v. 37.

- KUTCHAN, T. M. Molecular genetics of plant alkaloid biosynthesis. In: CORDELL, G. A. (ed.). *The alkaloids*. London: Academic, 1998. v. 50, p. 257-316.
- NINOMIYA, I.; KIGUCHI, T. Ergot alkaloids. In: BROSSI, A. (ed.) *The alkaloids-chemistry and pharmacology*. San Diego: Academic, 1990. v. 38, p.1-156
- VERPOORTE, R.; SCHRIPSEMA, J. Isolation, identification and structure elucidation of alkaloids. In: LINSKENS, H. F.; JACKSON, J. F. *Modern methods of plant analysis, alkaloids*. Heidelberg: Springer, 1994. v. 15, p. 1-20.

ALCALOIDES PIRROLIZIDÍNICOS

AUTORES

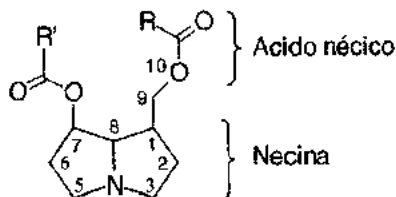
Moustapha Bah
Rogelio Pereda-Miranda

SUMARIO DO CAPÍTULO

1. Introducción
2. Distribución
3. Biogénesis
4. Diversidad estructural de los alcaloides pirrolizidínicos
5. Aislamiento y detección
6. Identificación
7. Farmacología
8. Drogas vegetales
9. Bibliografía
10. Lecturas sugeridas

1. INTRODUCCIÓN

La mayor parte de los alcaloides pirrolizidínicos son ésteres de 1-hidroximetilpirrolizidinas frecuentemente hidroxiladas en diversas posiciones del núcleo estructural, siendo el carbono de la posición C-7 la más recurrente. El núcleo básico de aminoalcohol recibe el nombre de necina, en tanto que la porción ácida se conoce como ácido néxico.



También se han aislado necinas no esterificadas como productos naturales. La insaturación del núcleo básico $\Delta^{1(2)}$ representa una característica estructural de varias de las necinas y, al mismo tiempo, constituye un requerimiento estructural para la toxicidad de este tipo de alcaloides. Los alcaloides pirrolizidínicos se pueden encontrar simultáneamente en forma de bases libres y de N-óxidos. Asimismo, se ha descrito la existencia de alcaloides pirrolizidínicos halogenados, aunque éstos pueden representar artefactos generados durante los procedimientos de extracción. Los alcaloides pirrolizidínicos se conocen en la literatura especializada por sus nombres triviales derivados, en su mayoría, de los nombres científicos de las especies que los biosintetizan, *e.g.* uno de los alcaloides mayoritarios de los extrac-

tos lipofílicos de numerosas especies del género *Senecio* (Asteraceae) se denominó senecionina. Las posiciones C-7 y C-9 en las necinas se encuentran, con pocas excepciones, esterificadas por uno o dos ácidos carboxílicos o por un ácido dicarboxílico para formar, en estos dos últimos casos, un macrólido de 11 a 14 miembros.

2. DISTRIBUCIÓN

Los alcaloides pirrolizidínicos se han aislado, identificado o detectado en diversos organismos, incluyendo plantas y animales. Sin embargo, las plantas superiores pertenecientes a diversas familias de las angiospermas constituyen sus fuentes principales. Se ha identificado un número mayor de 350 alcaloides pirrolizidínicos en plantas de las familias Asteraceae (Compositae), Boraginaceae y Fabaceae (Leguminosae) que se encuentran distribuidas en todo el mundo (Stegelmeier et al., 1999). El género *Senecio* de la familia Asteraceae es particularmente rico en alcaloides pirrolizidínicos. De la familia Boraginaceae y en la mayor parte de los casos de miembros de Convolvulaceae productores de alcaloides pirrolizidínicos, sólo se han descrito mono- o diésteres abiertos, siendo los ácidos nécicos más frecuentes el *erithro* y *threo*-2,3-dihidroxi-2-isopropilbutanoico, *erithro* y *threo*-2,3-dihidroxi-2-hidroxiisopropilbutanoico o derivados metoxilados o acetilados en alguno de éstos. Sin embargo, los alcaloides pirrolizidínicos también se han aislado de otras diez familias de plantas: Apocynaceae, Casuarinaceae, Ehretiaceae, Liliaceae, Linaceae, Orchidaceae, Poaceae (Gramineae), Ranunculaceae, Santalaceae y Scrophulariaceae. La producción de alcaloides pirrolizidínicos como fitoalexinas en especies de la familia Poaceae constituye una respuesta a la infección del hongo endófito *Acremonium uncinatum* (Justus et al., 1997). En cuanto a su localización en la planta, las dos formas en que se encuentran los alcaloides pirrolizidínicos (bases libres y N-óxidos) pueden existir de manera simultánea en diferentes partes (semillas, hojas, flores, etc.) y en proporciones muy variadas, dependiendo de la estación del año, del lugar de recolección y de la etapa de desarrollo de la planta. A pesar de que no se dispone de un inventario total de las plantas productoras de esos metabolitos, un gran número de ellas han formado parte de la herbolaria medicinal o la culinaria regional de numerosos países, en todo el mundo. De ellas, las que crecen en las regiones tropicales contienen una mayor cantidad de estos metabolitos secundarios. Estas plantas se consumen deliberada o inconscientemente, ya sea como alimentos o como remedios. Se han registrado muchos casos de envenenamiento de humanos y del ganado por el consumo de plantas ricas en alcaloides pirrolizidínicos. Con frecuencia, los cereales consumidos por humanos, así como los pastos utilizados como forraje para el ganado, están contaminados con estas ma-

las hierbas, a tal grado que constituye un verdadero problema de salud en muchas regiones, particularmente en los países en vías de desarrollo. También, la intoxicación humana es una consecuencia del consumo de leche bovina o de miel de abejas contaminadas con alcaloides pirrolizidínicos.

En animales silvestres, los alcaloides pirrolizidínicos se han aislado de ranas (Daly, 1998) y de insectos, principalmente. Se presume que estos animales no sintetizan alcaloides pirrolizidínicos, sino que sólo secuestran y almacenan los alcaloides vegetales presentes en sus fuentes alimenticias. Para los lepidópteros, los alcaloides pirrolizidínicos cumplen una doble función, ya que les confieren una protección contra sus depredadores (reptiles, aves y mamíferos) y sirven como precursores de feromonas esenciales.

3. BIOGÉNESIS

Desde el punto de vista biogenético, tanto las necinas como los ácidos nécicos se generan durante el metabolismo de los aminoácidos. En el caso de las necinas, éstas se biosintetizan a partir de la L-ornitina, un aminoácido no proteínico relativamente poco frecuente en la naturaleza. La L-ornitina se produce tanto en animales como en plantas. En animales, se origina a partir de la L-arginina durante el ciclo de la urea, en una reacción catalizada por la enzima arginasa. Sin embargo, los animales no sintetizan alcaloides pirrolizidínicos ni alcaloides tropánicos, que son los dos tipos de metabolitos generados a partir de la L-ornitina. En plantas, este aminoácido se forma a partir del ácido L-glutámico (figura 1). Los intermediarios postulados en la ruta biogenética de los alcaloides pirrolizidínicos incluyen la putrescina y la homoespermidina. Estudios recientes demuestran que la enzima homoespermidina sintasa, la cual cataliza la formación de la homoespermidina a partir de la putrescina, es estrictamente dependiente de la espermidina, siendo ésta la unidad donadora del segundo grupo aminobutilo a la putrescina. Cabe mencionar que tanto la espermidina sintasa como la homoespermidina sintasa se han aislado y caracterizado a partir de *Senecio vulgaris* L. La homoespermidina sintasa es una proteína de 370 aminoácidos con una masa molecular de 40,740 Da (Ober et al., 2000), mientras que la espermidina sintasa cuenta con una masa molecular de 37,000 Da (Graiser y Hartmann, 2000). Durante la evolución de la ruta biogenética, la homoespermidina sufre una serie de oxidaciones y reducciones, así como diversas reacciones intramoleculares que conducen a la formación de los núcleos de (+) y (-)-isoretronecanol y de traquelantamidina, las cuales a su vez se transforman en otras necinas saturadas e insaturadas. Así por ejemplo, mediante reacciones de hidroxilación y deshidratación de estas unidades, se obtiene la retronecina, una de las necinas preponderantes en los alcaloides pirrolizidínicos tóxicos. La otonecina, por su parte, se produce

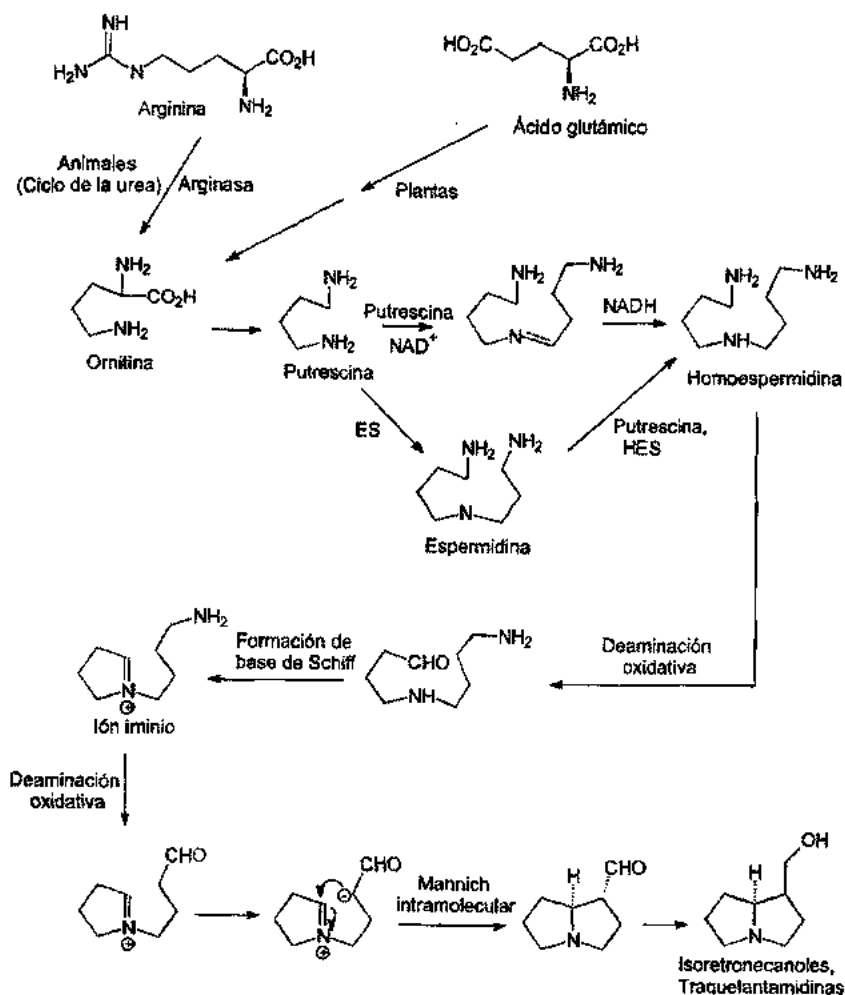


Figura 1. Biogénesis de las necinas. ES, espermidina sintasa; HES, homoespermidina sintasa

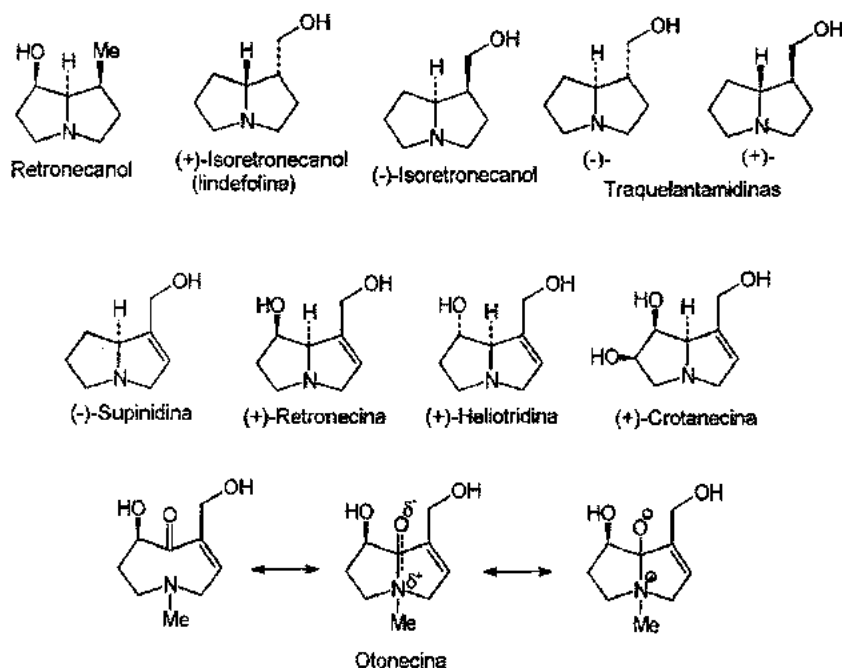


Figura 2. Núcleo pirrolizidínico y necinas más comunes en los alcaloides pirrolizidínicos

mediante reacciones enzimáticas que involucran una hidroxilación adicional de la retronecina, seguida de una N-metilación, de la formación de una cetona y de la ruptura simultánea del enlace formado entre el núcleo C-8 y el nitrógeno. Se han aislado pocas necinas como productos naturales. Ejemplos de este grupo se encuentran en las aminas polihidroxiladas de la serie química de las alexinas. La figura 2 ilustra las necinas más comunes.

Por otra parte, desde el punto de vista biogénico y, en contraste con la biosíntesis de la necinas, los ácidos nécicos se generan a partir de diferentes rutas que involucran a los aminoácidos L-valina, L-leucina y L-isoleucina y el producto secundario de esta última, la L-treonina. Mediante el metabolismo de la treonina, se biosintetizan los ácidos de cinco átomos de carbono, como el angélico, el tíglico y el sarasínico. Mientras tanto, la valina se convierte en los ácidos senécico (o senecioico), viridiflórico y traquelantánico. La formación de los ácidos dicarboxílicos con diez átomos de carbono en la porción ácida de los alcaloides pirrolizidínicos macrocíclicos se lleva a cabo mediante ciclizaciones de los diésteres abiertos. Por ejemplo, la senecionina se forma a partir de la 7,9-diangeloilretronecina mediante una reacción de adición tipo Michael. La porción ácida de los macrólidos de 14 miembros se

genera mediante una reacción de esterificación adicional entre los ácidos que se encuentran esterificando las posiciones C-7 y C-9. Los ácidos aromáticos se originan de la ruta del siquimato.

4. DIVERSIDAD ESTRUCTURAL DE LOS ALCALOIDES PIRROLIZIDÍNICOS

Una clasificación considera a los alcaloides pirrolizidínicos como saturados o insaturados, de acuerdo a la naturaleza de su necina y como monoésteres o diésteres abiertos o cíclicos. Esta clasificación resulta útil cuando se trata de invocar la actividad tóxica de los alcaloides pirrolizidínicos. La tesinina y la intermedina aisladas de *Borago officinalis* L. y de *Symphytum officinale* L. (Boraginaceae) representan monoésteres saturados e insaturados, respectivamente. La anforogina A forma parte de los alcaloides identificados en *Amphorogyne spicata* Stauffer et Hürl. (Santalaceae), en lo que constituye el primer reporte de alcaloides pirrolizidínicos sustituidos en C-1 y C-6 (Huong et al., 1998). La parsonina, la primera dihidropirrolizina descubierta, fue aislada de *Parsonsia laevigata* (Moon) Alston (Apocynaceae). La (7*R*)-hidroxidanaidal, otra dihidropirrolizina generada durante el metabolismo de la (7*S*)-heliotrina se utiliza como feromona por los lepidópteros. Otra vía metabólica de los alcaloides pirrolizidínicos secuestrados los convierte a N-óxidos, los cuales se reducen en el tracto intestinal del depredador de insectos y anfibios que acumulan alcaloides pirrolizidínicos. El alcaloide terciario lipofílico así producido se absorbe de manera pasiva y posteriormente se bioactiva por la citocromo P-450 oxidasa a la dihidropirrolizina tóxica (Lindigkeit et al., 1997). Resulta sumamente sorprendente el hecho de que los insectos puedan alimentarse de plantas productoras de alcaloides pirrolizidínicos debido a la elevada toxicidad de éstos para otros grupos de animales, en especial para los mamíferos. Al parecer durante los procesos coevolutivos, los mamíferos en un intento de desintoxicación celular de los alcaloides pirrolizidínicos mediante procesos de deshidrogenación generaron accidentalmente metabolitos con una mayor toxicidad y de consecuencias fatales. La monocrotalina y la senecionina, dos de los alcaloides pirrolizidínicos tóxicos más frecuentes en las plantas medicinales, son diésteres macrocíclicos de 11 y 12 miembros, respectivamente. En tanto que la calosina y los derivados de la bulgarsenina recientemente aisladas de *Senecio callosus* Sch.-Bip. (Asteraceae) representan ejemplos de diésteres cíclicos de 13 miembros. De las especies de *Parsonsia*, se aisló a la parsonsianina, entre otros macrólidos de 14 miembros. La figura 3 ilustra la diversidad estructural de los alcaloides pirrolizidínicos.

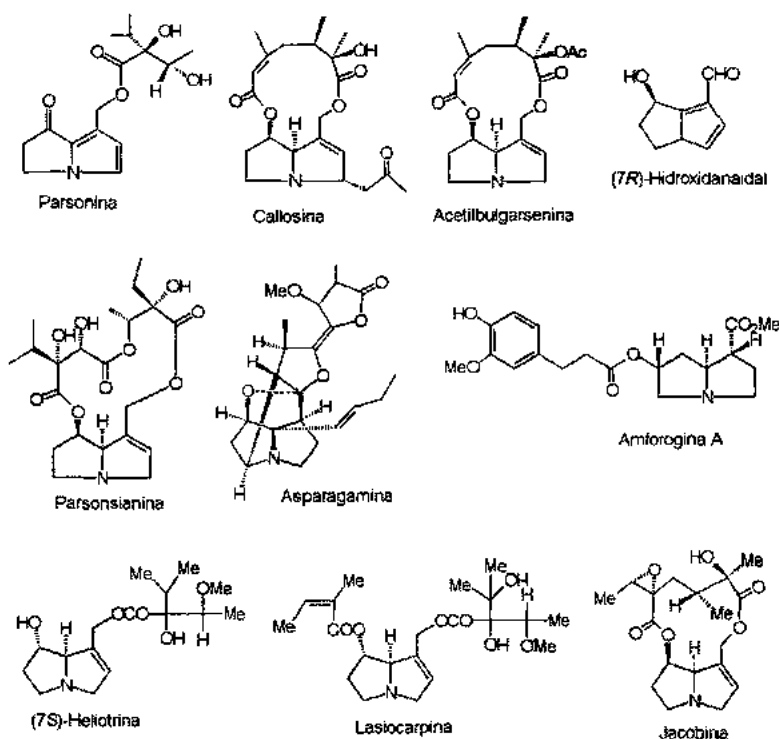


Figura 3. Diversidad estructural de los alcaloides pirrolizidínicos

5. AISLAMIENTO Y DETECCIÓN

Los alcaloides pirrolizidínicos son compuestos sensibles que pueden sufrir modificaciones estructurales debido a una falta de precaución en los procedimientos experimentales utilizados para su aislamiento. Por ejemplo, el calor puede promover la descomposición de los alcaloides pirrolizidínicos y alterar así el verdadero contenido o la composición de este tipo de mezclas alcaloides en el material vegetal. También, la deshidratación térmica de los N-óxidos a los pirroles tóxicos es un proceso frecuente de descomposición. Las enzimas vegetales, por su parte, pueden oxidar las bases libres a sus respectivos N-óxidos durante el proceso de secado del material vegetal. Por lo tanto, este proceso debe realizarse rápidamente, con calor moderado, suficiente ventilación y sin contacto directo con el sol o con una fuente de luz intensa. Los ésteres de las necinas pueden sufrir saponificaciones a pH mayores de 9, mientras que los alcaloides pirrolizidínicos con grupos epóxidos son lábiles frente a haloácidos. Asimismo, los disolventes halogenados como el cloroformo y el diclorometano generan sales cuaternarias de las aminas terciarias.

rias, o bien, favorecen reacciones fotoquímicas con las aminas, formando los hidrocloruros correspondientes.

Para la extracción de alcaloides pirrolizidínicos se han utilizado diversos métodos, dependiendo de la finalidad de la investigación. Para la cuantificación de alcaloides totales, los N-óxidos se reducen a sus respectivas bases libres durante el proceso de extracción. El material vegetal fresco o seco y molido se extrae con etanol o metanol mediante maceración o extracción continua en un Soxhlet, o mediante una mezcla de metanol-cloroformo (1:1). El disolvente se evapora y el extracto seco se suspende en una solución acuosa ácida diluida. Se remueven las clorofilas y las grasas mediante una extracción con éter de petróleo. Si se desea cuantificar los alcaloides pirrolizidínicos totales, los N-óxidos de la solución ácida se reducen a las bases libres mediante agitación de la solución acuosa con zinc en polvo (Bah et al., 1994). La mezcla se filtra y se basifica con NH_4OH concentrado. Los alcaloides se extraen con un disolvente orgánico (cloroformo o acetato de etilo). Para completar la extracción de los alcaloides pirrolizidínicos muy solubles en agua, la solución acuosa se satura con sal (carbonato de potasio) antes de llevar a cabo la extracción. La evaporación de las fases orgánicas resultantes proporciona un extracto crudo alcaloideo. Para la separación de los alcaloides pirrolizidínicos individuales, se han empleado diversos métodos que incluyen la cristalización, la cromatografía en capa fina o en papel, la cromatografía líquida en columna abierta sobre alúmina, celulosa, gel de sílice o usando resinas de intercambio iónico. También se ha empleado en numerosas ocasiones la cromatografía líquida de alta presión (Brown et al., 1994).

La detección analítica de los alcaloides tóxicos o sus metabolitos en muestras de tejidos animales, sueros, orina, bilis y sangre, constituye un importante objetivo para determinar el potencial tóxico de las plantas medicinales productoras de alcaloides pirrolizidínicos. El empleo de la cromatografía en capa fina permite la resolución de mezclas complejas de alcaloides pirrolizidínicos hasta un cierto límite ya que numerosos alcaloides comparten los mismos valores en sus factores de retención (R_f). Una segunda desventaja para esta técnica es su baja reproducibilidad ya que variables experimentales como el espesor de la fase estacionaria, el grado de saturación de las cámaras y la temperatura ambiente, entre otros, afectan considerablemente el comportamiento cromatográfico de los alcaloides pirrolizidínicos modificando su valores de R_f . Entre los reactivos cromógenos empleados para la visualización en cromatografía en capa fina de esos metabolitos, destacan el cloranilo, los vapores de yodo y el reactivo de Ehrlich (solución al 5% de cloruro de *p*-dimetilaminobenzaldehído en etanol), siendo sólo este último un reactivo específico para los alcaloides pirrolizidínicos insaturados. La cromatografía gaseosa acoplada a la espectrometría de masas (CG-EM) constituye la técnica de mayor empleo para el análisis de mezclas complejas de alcaloides pi-

rolizidínicos. El empleo de columnas capilares conteniendo una fase estacionaria de polidimetilsiloxano (OV-1, DB-1) ha permitido el registro de tiempos de retención (R_t) y patrones de fragmentación en la espectrometría de masas (Bah et al., 1994) para una centena de alcaloides pirrolizidínicos (Witte et al., 1993). En la actualidad, la cromatografía líquida acoplada tanto a la espectrometría de masas (CL-EM) como a la resonancia magnética nuclear (CL-RMN) se ha utilizando cada vez con una mayor frecuencia en la identificación de alcaloides pirrolizidínicos (Ndjoko et al., 1999). Estas técnicas permiten la asignación precisa de los picos cromatográficos mediante sus R_t para los alcaloides pirrolizidínicos conocidos y, particularmente, para la diferenciación de las estructuras isoméricas de ciertos diésteres macrocíclicos. Recientemente, se han desarrollado métodos para la detección *in vitro* e *in vivo* de pirroles y sus aductos con el ADN. Esos métodos utilizan las cromatografías gaseosa y de líquidos acopladas a la espectrometría de masas y a la RMN (Schoch et al., 2000).

6. IDENTIFICACIÓN

6.1. Propiedades físicas de los alcaloides pirrolizidínicos

Se han descrito las propiedades físicas de un gran número de alcaloides pirrolizidínicos conocidos. Como en la investigación química de cualquier sustancia, estas características pueden ser útiles para fines de identificación de compuestos conocidos. Se disponen de puntos de fusión de los alcaloides pirrolizidínicos, de las necinas, de los ácidos nélicos y de algunos derivados de los alcaloides pirrolizidínicos, como son los hidroclozuros y los picratos. Las necinas tienen una consistencia que varía desde el estado aceitoso (supinidina, traquelantamidinas) hasta sólidos con elevados puntos de fusión como la crotanecina (202-203.5°C) y la rosmarinecina (171-172°C), o bajos como el isoretronecanol (lindefolina) (40-41°C). Los alcaloides pirrolizidínicos saturados e insaturados muestran la misma tendencia. Una buena proporción de los N-óxidos se descompone bajo el efecto del calor. Por su parte, los puntos de fusión de diversos ácidos nélicos y los disolventes ideales para su recristalización se encuentran documentados (Mattocks, 1986). Mediante espectrometría de masas de alta resolución, se obtuvieron los pesos moleculares de numerosos alcaloides pirrolizidínicos saturados e insaturados, N-óxidos, necinas y ácidos nélicos. Se han determinado constantes de ionización (pK_a) de necinas en diferentes disolventes. En ese respecto en general, sustituyentes en el anillo pirrolizidínico disminuyen el carácter básico de la necina. Por ejemplo, la supinidina es una base más fuerte que la heliotridina y que la retronecina. Estos dos últimos aminoalcoholes constituyen bases más fuertes que sus monoésteres, los cuales a su vez son más fuertes que los diésteres.

También se han determinado las solubilidades y los coeficientes de partición de muchos alcaloides pirrolizidínicos. La distribución de los alcaloides pirrolizidínicos entre fases acuosas y lipídicas depende de la proporción de bases no ionizadas, o sea del pK_a . Las formas ionizadas, las cuales predominan en soluciones ácidas, se solubilizan evidentemente en fases acuosas, mientras que la solubilidad en agua de las bases libres estará determinada por sus propias características estructurales, por ejemplo, la presencia de grupos OH. El coeficiente de partición es particularmente sensible a los cambios de pH cuando se trabaja cerca del pK_a del alcaloides pirrolizidínicos. La mayoría de los alcaloides pirrolizidínicos tienen un pK_a menor a 9. Por tal motivo, cuando se trata de considerar la influencia de los coeficientes de partición sobre los efectos biológicos de los alcaloides pirrolizidínicos, es importante determinarlos en el pH fisiológico. Una aplicación analítica práctica de la variación en los coeficientes de partición de alcaloides pirrolizidínicos ha sido su empleo en la separación de los mismos utilizando la cromatografía líquida a contracorriente (Cooper et al., 1996).

6.2. Espectroscopia ultravioleta

Los alcaloides pirrolizidínicos muestran una absorción relativamente débil que se sitúa por debajo de los 220 nm y, por lo tanto, la espectroscopia UV es de poca utilidad en la determinación estructural de este tipo de metabolitos. El uso de esta metodología se ha limitado prácticamente a distinguir entre los grupos etilidenos en conformación *cis* y *trans* en pares de isómeros como la senecionina y la integerrimina. Como es de esperarse, por su sistema conjugado las dihidropirrolizinas muestran una absorción más intensa y en longitudes de onda ligeramente mayores que las de sus respectivas pirrolizidinas.

6.3. Espectroscopia infrarroja

Para la elucidación estructural de alcaloides pirrolizidínicos, esta región del espectro electromagnético es útil para determinar insaturaciones, grupos hidroxilos y ésteres. Los datos disponibles para diferentes alcaloides pirrolizidínicos están registrados en soluciones de Nujol, CCl_4 y $CHCl_3$, así como en pastillas de KBr o directamente en películas. Los ésteres α,β -insaturados muestran una banda de absorción en el intervalo 1710-1720 cm^{-1} para el alargamiento (ν) del grupo C=O conjugado, mientras que los saturados absorben en 1730-1740 cm^{-1} .

La frecuencia de alargamiento del C=C en los ácidos nécticos α,β -insaturados se encuentra en el intervalo 1640-1660 cm^{-1} . La mayoría de las néctinas y sus ésteres producen una banda débil en el intervalo 3025-3090 cm^{-1} en KBr, la cual se atribuye a la frecuencia de alargamiento ν_{C-H} en C-2. Por su

parte, la frecuencia de absorción de los grupos OH aparece alrededor de 3500 cm^{-1} . La aparición de bandas alrededor de los 600 , 750 y 965 cm^{-1} indica la presencia del anillo pirrolidínico.

6.4. Resonancia magnetica nuclear

La resonancia magnetica nuclear (NMR) en sus diferentes modalidades es el método analítico de mayor uso para la determinación estructural de alcaloides pirrolizidínicos. Los datos espectroscópicos fueron obtenidos en primera instancia con equipos de baja frecuencia (60 MHz). Sin embargo, como era de esperarse, las estructuras de diversos alcaloides pirrolizidínicos se han corregido con base en los datos registrados en equipos de alta resolución (400 y 500 MHz) y con el uso de diferentes secuencias de pulsos bidimensionales (Krebs y Carl, 1996). Una de las señales más distintivas de los alcaloides pirrolizidínicos insaturados en la RMN- ^1H es el multiplete alrededor de $\delta\ 6\text{ ppm}$ producido por el núcleo H-2. Esta señal se distingue fácilmente de los dobletes en la misma región debidos a los núcleos H-2 y H-3 de los correspondientes pirroles. Para algunos ésteres de alcaloides pirrolizidínicos, se observa un singulete para los protones H-9 centrados en $\delta\ 4.2\text{-}5\text{ ppm}$. Sin embargo, esos núcleos son a menudo magnéticamente no equivalentes, sobre todo en los ésteres abiertos y en los diésteres macrocíclicos. Por lo tanto, esos protones producen dos series de señales que pueden alcanzar una separación de hasta un $\Delta\delta$ de 1.55 ppm . Los protones en las posiciones saturadas del anillo pirrolizidínico aparecen en una región restringida del espectro, dificultando a menudo su discriminación debido a la multiplicidad y al solapamiento de las señales. Otras señales características de los alcaloides pirrolizidínicos se deben a los grupos metilos presentes en los ácidos néicos. Esas señales aparecen como singuletes o dobletes en el intervalo $\delta\ 0.85\text{-}1.96$. Se publicó una compilación útil y extensa de los datos de RMN- ^1H de más de 350 alcaloides pirrolizidínicos (Logie et al., 1994). La RMN- ^{13}C se ha utilizado de manera paralela a la RMN- ^1H para la caracterización estructural de alcaloides pirrolizidínicos. Se encuentran publicados los valores para la RMN ^{13}C de diversas necinas, así como de la mayoría de los alcaloides pirrolizidínicos descritos en los últimos años.

6.5. Espectrometría de masas (EM)

Las técnicas de fragmentación utilizadas para el estudio de los alcaloides pirrolizidínicos incluyen el impacto electrónico (EM-IE), la ionización química (EM-IQ) en sus modalidades de ionización positiva (metano) y negativa (OH^-). Mediante la técnica de impacto electrónico, las necinas saturadas muestran un pico base característico de $m/z\ 82$, el cual se genera a través de la fragmentación multicéntrica promovida por la ruptura α al nitrógeno del

enlace C2-C3 con la concomitante eliminación de un radical correspondiente al sustituyente de la posición C7, *i.e.* H, OH, OCOR' y una molécula neutra de alqueno con la porción del enlace C1-C2 (figura 4). Un mecanismo para la eliminación de un alqueno se promovería de manera análoga cuando la ruptura sucede en el enlace C5-C6 generando el fragmento de m/z 97 ó 113. En tanto que para las necinas insaturadas, el patrón de fragmentación es idéntico; sin embargo, los cationes corresponden a dos unidades de masa atómica menores. El fragmento de m/z 80 es sumamente favorecido por la aromaticidad adquirida debido a una expansión al catión piridinio.

Los espectros obtenidos mediante ionización química suelen ser más simples que los generados mediante la ionización electrónica. En general, esta técnica permite identificar el peso molecular del alcaloide pirrolizidínico mediante la observación del pico $(M + H)^+$ en la modalidad catiónica (positiva) o $(M - H)^-$ en la aniónica. Así, la detección de un ión de m/z 154 (retronecina PM 155) durante la ionización química negativa de un extracto crudo alcaloideo representa un indicativo inequívoco de la presencia de necinas insaturadas en la mezcla, lo cual convierte a esta técnica en una metodología muy útil para la detección de alcaloides pirrolizidínicos hepatotóxicos en alimentos, drogas crudas y remedios tradicionales. Los N-óxidos no generan espectrometría de masas satisfactorios, debido a su baja volatilidad y a su fácil descomposición.

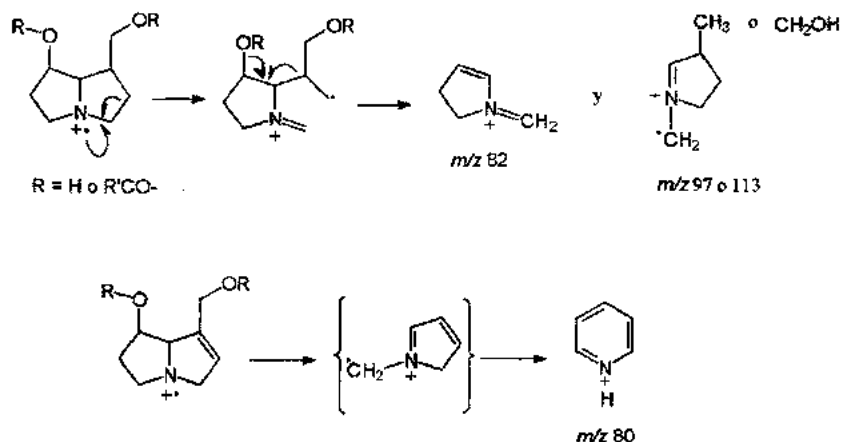


Figura 4. Mecanismo general de fragmentación de los alcaloides pirrolizidínicos

7. FARMACOLOGÍA

Quizás el aspecto más importante de las especies vegetales que sintetizan alcaloides pirrolizidínicos está asociado con la alta toxicidad demostrada por estos metabolitos. Por su amplio espectro de actividad biológica, los alcaloides pirrolizidínicos se consideran como la clase de toxinas de origen vegetal más importantes que han alterado la salud del hombre y de los animales domésticos. Esa toxicidad tiene proporciones pandémicas y por esa razón ha sido objeto de atención por parte de organismos gubernamentales de numerosos países y de organismos internacionales regionales como la Unión Europea y mundiales como la Organización Mundial del Medio Ambiente, la Organización Internacional del Trabajo y la Organización Mundial de la Salud (OMS). La Organización Mundial de la Salud, que recomienda a los países en vías de desarrollo la identificación, la evaluación, la utilización y la conservación de las plantas medicinales nativas ha emitido una alerta sobre los efectos dañinos de algunos remedios a través de la publicación en 1988 de una lista de 248 especies medicinales pertenecientes a más de 40 diferentes géneros, 60 de las cuales sintetizan alcaloides pirrolizidínicos (Anonymus, 1988). La investigación química y farmacológica de los alcaloides pirrolizidínicos se desarrolló precisamente como consecuencia de la aparición y la persistencia de la otrora llamada "enfermedad del senecio", la cual es causada por el consumo de plantas que sintetizan pirrolizidinas, en particular las especies pertenecientes al género *Senecio* (Asteraceae). Esta toxicidad se manifiesta principalmente en efectos hepatotóxicos, aunque también se han establecido sus efectos citotóxicos, mutagénicos, carcinogénicos y teratogénicos, entre otros. Se demostró que los alcaloides pirrolizidínicos hepatotóxicos son las necinas que contienen el doble enlace entre las posiciones C-1 y C-2 (alcaloides pirrolizidínicos insaturados). También, un requisito para la toxicidad es la presencia de los mono- o diésteres. En principio, los N-óxidos exhiben la misma toxicidad que las bases libres insaturadas, dado que se reducen en el tracto intestinal, aunque por su solubilidad en agua, tienden a excretarse.

Experimentos realizados en animales han revelado la estrecha relación existente entre la citotoxicidad de los alcaloides pirrolizidínicos y su metabolismo. Se ha demostrado que esa toxicidad se debe a los metabolitos y no a los propios alcaloides aislados de sus fuentes naturales. En los mamíferos, los alcaloides pirrolizidínicos se metabolizan en el hígado y, como una consecuencia, este órgano resulta sumamente dañado, independientemente de la vía de administración. La estimulación de las enzimas microsomiales del hígado por el pretratamiento con fenobarbital incrementa la susceptibilidad de los animales a los alcaloides pirrolizidínicos, debido a una aceleración de las rutas metabólicas para la formación de los metabolitos tóxicos (Yang et al., 2001).

En el organismo, los alcaloides pirrolizidínicos siguen diversas vías de metabolismo o disponibilidad y sus efectos biológicos dependen del balance de cada una de ellas. Las principales rutas metabólicas consisten en la hidrólisis enzimática de los ésteres, la conversión de los alcaloides pirrolizidínicos a sus correspondientes N-óxidos y la deshidrogenación para formar derivados pirrólicos (dihidropirrolizinas). Las dos primeras se consideran como mecanismos de desintoxicación. En tanto que la formación de pirroles se asocia con la toxicidad de los alcaloides pirrolizidínicos. La deshidrogenación y la N-oxidación se realizan mediante enzimas similares pertenecientes al sistema microsomal hepático y los dos tipos de metabolitos se producen simultáneamente en diferentes proporciones dependiendo de los factores estéricos en los sustratos (figura 5).

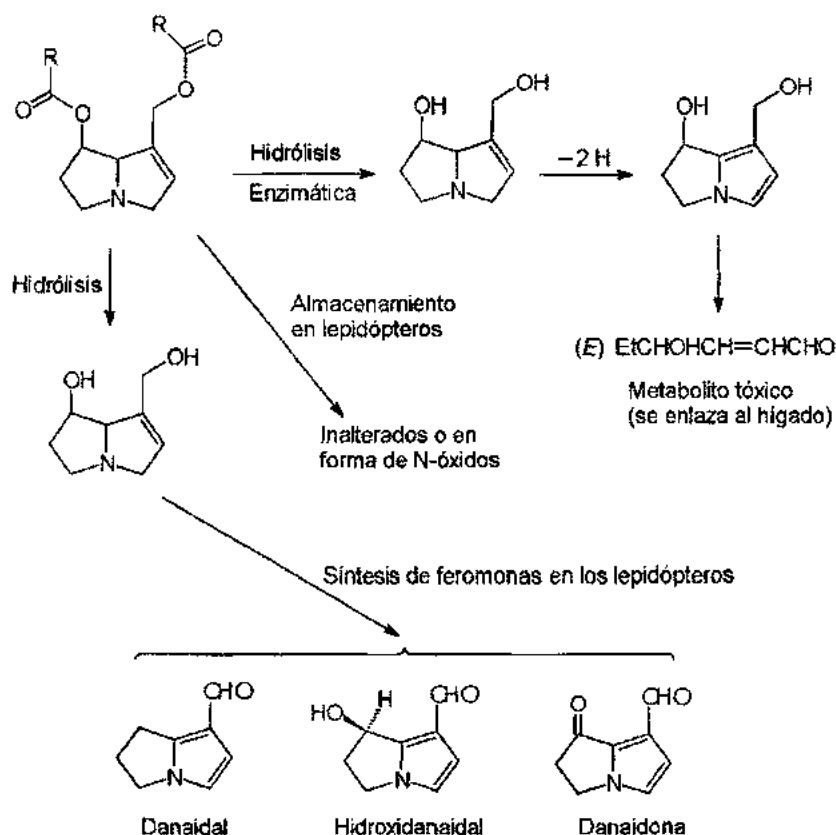


Figura 5. Rutas metabólicas que conducen a la activación o a la desintoxicación de los alcaloides pirrolizidínicos hepatotóxicos en mamíferos e insectos

La toxicidad de los pirroles se encuentra asociada a su elevada reactividad como agentes alquilantes de los constituyentes químicos de los tejidos, tales como las proteínas y los ácidos nucleicos. Los grupos nucleofílicos de estas macromoléculas, como el sulfhidrilo, el hidroxilo o los aminos, como en las purinas y las pirimidinas, reaccionan con los núcleos pirrólicos producidos en el metabolismo de los alcaloides pirrolizidínicos; estos metabolitos forman iones carbonio incipientes susceptibles de sufrir ataques nucleofílicos en sus posiciones C-7 y C-9 y quizás en otras posiciones (Huxtable, 1990) (figura 6). Esa doble alquilación da como resultado un enlazamiento entrecruzado irreversible de las hebras del ADN o del ARN, provocando de esa manera la carcinogénesis. La conjugación del anillo pirrólico con el grupo éster es un factor determinante en el poder alquilante y, por lo tanto, en la citotoxicidad de esos metabolitos. Aunque el metabolismo de los alcaloides pirrolizidínicos a pirroles ocurre casi exclusivamente en el hígado, se han encontrado trazas de sus metabolitos en los pulmones, los riñones y el bazo de animales de laboratorio. Debido a su elevada hepatotoxicidad, la posibilidad de emplear a los alcaloides pirrolizidínicos como agentes antitumorales es poco promisorio.

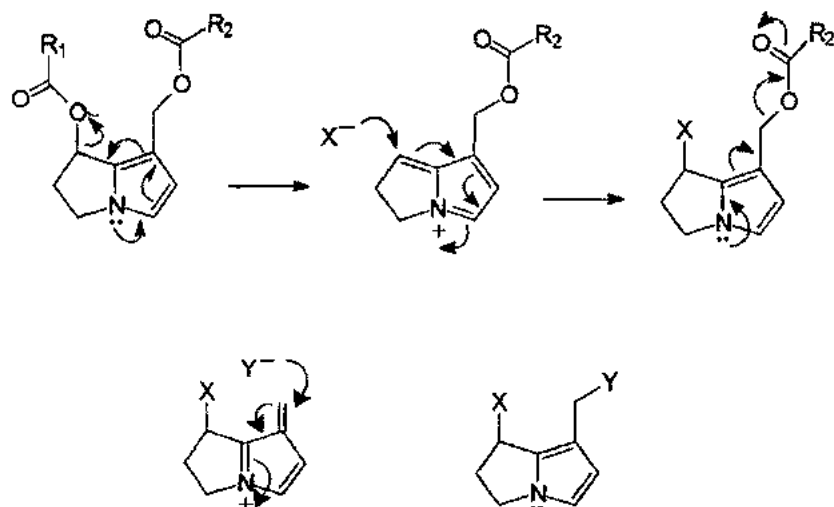
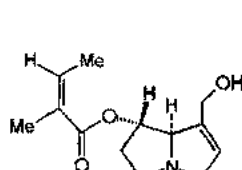


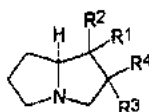
Figura 6. Mecanismo de acción de los pirroles con los grupos nucleofílicos de las moléculas biológicas

8. DROGAS VEGETALES

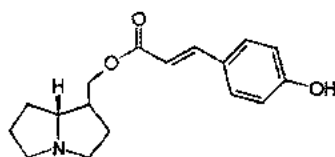
El estudio químico de las plantas que sintetizan alcaloides pirrolizidínicos nativos del continente americano no es abundante. La mayor parte de los trabajos fitoquímicos existentes provienen de Europa. Por esta misma razón, en algunos países de la Unión Europea existe una reglamentación para la manufactura y la venta de drogas crudas de plantas que sintetizan alcaloides pi-



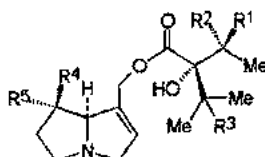
7-Angeliolheliotridina



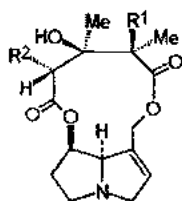
- Tusilagina ($R^1 = H$; $R^2 = CO_2Me$; $R^3 = Me$; $R^4 = OH$)
 Isotusilagina ($R^1 = H$; $R^2 = CO_2Me$; $R^3 = OH$; $R^4 = Me$)
 Tusilaginina ($R^1 = CO_2Me$; $R^2 = H$; $R^3 = OH$; $R^4 = Me$)
 Isotusilaginina ($R^1 = CO_2Me$; $R^2 = H$; $R^3 = Me$; $R^4 = OH$)



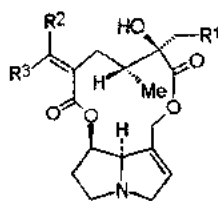
Tesirina



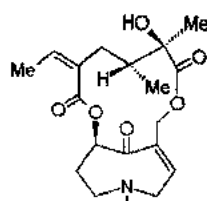
- Intermedina ($R^1 = R^3 = R^5 = H$; $R^2 = R^4 = OH$)
 Licopsamina ($R^1 = R^4 = OH$; $R^2 = R^3 = R^5 = H$)
 Simlandina ($R^1 = OH$; $R^2 = R^3 = R^5 = H$; $R^4 = OAng$)
 Simviridina ($R^1 = OH$; $R^2 = R^3 = R^5 = H$; $R^4 = OSen$)
 Mioscorpina ($R^1 = R^3 = R^5 = H$; $R^2 = OH$; $R^4 = OTig$)
 Simfitina ($R^1 = OH$; $R^2 = R^3 = R^5 = H$; $R^4 = OTig$)
 Amabilina ($R^1 = OH$; $R^2 = R^3 = R^4 = R^5 = H$)
 Supinina ($R^1 = R^3 = R^4 = R^5 = H$; $R^2 = OH$)
 Heliosupina ($R^1 = R^3 = OH$; $R^2 = R^4 = H$; $R^5 = OAng$)
 Echinatina ($R^1 = R^5 = OH$; $R^2 = R^3 = R^4 = H$)



- Monocrotalina ($R^1 = OH$; $R^2 = Me$)
 Fulvina ($R^1 = H$; $R^2 = Me$)
 Trichodesmina ($R^1 = (Me)_2CH-$)



- Retrorsina ($R^1 = OH$; $R^2 = H$; $R^3 = Me$)
 Integerrimina ($R^1 = H$; $R^2 = Me$; $R^3 = H$)
 Usaramina ($R^1 = OH$; $R^2 = Me$; $R^3 = H$)
 Senecionina ($R^1 = R^2 = H$; $R^3 = Me$)



Senkirkina

Figura 7. Alcaloides pirrolizidínicos identificados en algunas plantas medicinales

rolizidínicos. Estas normas establecen un umbral de tolerancia para el contenido alcaloideo de las materias primas. Por ejemplo, en Alemania sólo se permite el consumo de remedios vegetales si la concentración diaria de la dosis recomendada de alcaloides pirrolizidínicos no excede de 0.1 µg para su administración oral prescrita y de 10 µg para su aplicación externa. En la figura 7 se ilustran los alcaloides pirrolizidínicos encontrados con mayor frecuencia en las drogas crudas de origen vegetal. A continuación se describen breves monografías de las principales drogas vegetales productoras de alcaloides pirrolizidínicos. Se incluyen ejemplos selectos de plantas medicinales europeas y americanas.

AYAPANA

Nombre científico: *Eupatorium ayapana* Vent. (= *Eupatorium dendroides* Spreng. y *Eupatorium triplinerve* Vahl)

Familia botánica: Asteraceae (Compositae)

Nombres comunes: perna-de-saracura, aiapana, erva-de-cobra, iapana (portugués); thé de l' Amazone (francés); ayapana-tea (inglés)

Partes usadas: hojas

Las especies de este complejo medicinal de ayapanas son arbustos ornamentales. En la medicina popular se recomienda por las propiedades tónicas, estimulantes, sudoríficas, estomacales, digestivas, antidiarreicas, antidi-sentéricas y astringentes. También, se emplean contra el veneno de víboras.

Composición química: No hay estudios químicos.

BORRAJA

Nombre científico: *Borago officinalis* L.

Familia botánica: Boraginaceae

Nombres comunes: borragem (portugués); bourrache officinale (francés); borage, bee-bread (inglés)

Partes usadas: flores, hojas y partes aéreas completas

La borraja es una planta que se adapta a cualquier tipo de suelo. Su propagación se efectúa fácilmente mediante semillas. Se encuentra ampliamente distribuida en toda Europa y en el norte de África. Actualmente, se cultiva en Norteamérica para la producción de aceites a partir de sus semillas. La planta se consume también como una verdura en ensaladas y como un condimento. En la medicina popular, se emplea como una droga emoliente, diurética, sudorífica y como un profiláctico contra la inflamación del pecho y del peritoneo en caso de artritis reumática, tos y padecimientos de la garganta. En Francia, se vende una droga cruda hecha con las flores de esta especie; la droga se etiqueta como un remedio tradicional eficaz para el tratamiento de la bronquitis benigna y para aumentar la capacidad de los riñones en la eliminación de los líquidos.

Composición química: Los tallos y las hojas contienen de 2-8 mg/kg de alcaloides pirrolizidínicos, de los cuales se han identificado la licopsamina, la 7-acetil-licopsamina, la amabilina, la supinina y trazas de intermedina y su derivado C-7. Las semillas contienen como alcaloide pirrolizidínico principal a la tesinina no tóxica.

CINOGLOSA

Nombre científico: *Cynoglossum officinale* L.

Familia: Boraginaceae

Nombres comunes: cinoglosso, lingua-de-cão (portugués); cynoglosse (francés); hound's tongue (inglés)

Partes usadas: raíz, corteza

La cinoglosa es una planta silvestre herbácea bienal originaria de Europa y que se propaga a través de sus semillas. En la medicina popular las decocciones de raíces y corteza se emplean líquidas o en compresas como emoliente, astringente, refrescante, expectorante balsámico, antidiarreico, antitúsgeno. En uso externo, se emplea como la vulneraria, o sea, para detener hemorragias y curar heridas y úlceras.

Composición química: La especie contiene hasta un 1.5% en peso seco de alcaloides pirrolizidínicos, los cuales incluyen a la heliosupina y su N-óxido (0.77%), la echinatina (0.22%), la 12-acetilheliosupina (0.03%), la 7-angelilheliotridina (0.02%); todos son monoésteres o diésteres abiertos.

CONSUELDA

Nombre científico: *Symphytum officinale* L.

Familia: Boraginaceae

Nombres comunes: confrei, consólida-maior, erva-do-cardeal (portugués); grande consoude, consoude officinale (francés); comfrey, knitbone, boneset, consound (inglés)

Partes usadas: hojas y raíces

La planta es originaria de Europa y de las zonas asiáticas con clima templado, sin embargo es bastante adaptable al clima tropical. Aunque las hojas son amargas, se consumen como alimento. En la medicina popular, los extractos, ungüentos y compresas de las hojas y las raíces tienen un uso externo para tratar fracturas, heridas, torsiones, contusiones, mastitis y hematomas. La planta se consume por los vegetarianos en numerosas recetas para preparar ensaladas, sopas, panes y bebidas. Existen numerosos casos de intoxicación descritos como una consecuencia del consumo de la consuelda y otras especies de este género, debido al amplio uso en la medicina tradicional y en la culinaria, por ejemplo la consuelda rusa (*Symphytum x uplandicum* Nyman = *Symphytum peregrinum* Ledeb.) originaria del Cáucaso, un híbrido entre *Symphytum officinale* L. y *Symphytum asperum* Le-

pech. No se recomienda el consumo y uso de esta planta medicinal bajo ninguna circunstancia.

Composición química: Las hojas de *Symphytum officinale* L. contienen de 0.02 a 0.18% en peso seco y las raíces de 0.25 a 0.29% de alcaloides pirrolizidínicos. Estos alcaloides incluyen a la intermedina, la licopsamina y sus derivados 7-acetilados, la simlandina, la simviridina, la mioscorpina y la simfitina. El análisis de más de 300 muestras comerciales de consuelda demostró una cantidad considerable (hasta de 0.559%) de alcaloides pirrolizidínicos totales. Las raíces alcanzan una proporción de pirrolizidinas cien veces mayor a la encontrada en las partes aéreas (Robins, 1995).

MARIA-MOLE

Nombre científico: *Senecio brasiliensis* (Spreng.) Less.

Familia: Asteraceae (Compositae)

Nombres comunes: tasneirinha, flor-das-almas, catião, craveiro-do-campo, erva-lanceta, malmequer-amarelo (portugués); petit seneçon (francés); groundsel, birdessed (inglés)

Partes usadas: raíz, corteza, hojas secas

Esta planta dañina perteneciente al género *Senecio* es una especie silvestre herbácea perenne que invade terrenos cultivados y pastizales. En la medicina popular, sus hojas se usan de manera externa para curar heridas y en forma de cataplasmas. Existen además reportes de envenenamiento en humanos relacionados con el consumo accidental de la planta como un contaminante de productos derivados del trigo. Su alta toxicidad para el ganado bovino ocasiona perjuicios en la industria pecuaria de los estados sureños de Brasil.

Composición química: Esta especie contiene un alto contenido de alcaloides pirrolizidínicos insaturados (ca. 0.1%). Los mayoritarios son la integerrimina, la jacobina, la retrorsina, la senecionina y la senecifilina. Numerosas son las especies de malas hierbas que pertenecen al género *Senecio* con una distribución a nivel mundial. Todas estas plantas tóxicas contienen cantidades considerables de alcaloides pirrolizidínicos, la mayoría de los cuales contienen principalmente necinas insaturadas. Las siguientes especies se utilizan en la medicina popular europea:

Senecio vulgaris L.: La cantidad de alcaloides pirrolizidínicos totales en el material vegetal fresco alcanza hasta un 0.16%. Se han identificado en esta especie a la senecionina, la senecifilina, la retrorsina, la integerrimina, la usaramina y la ridelina y sus correspondientes N-óxidos como los principales constituyentes tóxicos. En la medicina tradicional, se utilizan las decocciones de la planta entera para mejorar la circulación de la sangre y como emenagogo y en algunos casos para el tratamiento de la amenorrea.

Senecio jacobaea L.: Hasta el inicio del siglo XX, esta planta dañina se utilizó como antiespasmódica, emenagoga y en casos ginecológicos de ameno-

rea. El total de alcaloides pirrolizidínicos es de hasta 0.3% en peso seco. Esta especie comparte los mismos alcaloides insaturados que el senecio común.

Senecio nemorensis L. ssp. *fuchii*: Esta especie es nativa de la región montañosa centroeuropea y del Cáucaso y se utiliza para el tratamiento de la hipertensión y las hemorragias. La planta contiene hasta un 0.4% de alcaloides pirrolizidínicos no tóxicos (fuchsisenecionina) y 0.007% de tóxicos (senecionina).

TE MILAGRO

Nombre científico: *Packera candidissima* (Greene) Weber et Löve (= *Senecio candidissimus* Greene)

Familia: Asteraceae

Nombres comunes: lechuguilla de la sierra, té de milagros, yerba de la muela (español); miracle the (inglés)

Partes usadas: hojas secas, raíces, planta entera

El te milagro es una planta medicinal originaria del estado de Chihuahua en el norte de México que tiene un amplio uso en la medicina tradicional de ese país. Las infusiones de las hojas se toman como té para aliviar padecimientos renales y úlceras. La decocción se aplica como cataplasma para curar quemaduras, erupciones cutáneas, infecciones superficiales. Se bebe para la diabetes y combinada con "cola de caballo" (especies de *Equisetum*) y con "barba de elote" (*Zea mays* L.) para problemas prostáticos. La planta se exporta a los Estados Unidos de América en donde se usa para los mismos fines medicinales en Texas, Nuevo México y Arizona por la población de origen hispánico. Las raíces fragmentadas se colocan en las caries para aliviar los dolores de muela.

Composición química: siete alcaloides pirrolizidínicos hepatotóxicos fueron detectados en *Packera candidissima* (Greene) Weber et Löve, cinco de los cuales se identificaron como la senecionina, la retrorsina, la integerrimina, la usaramina y la sinkirquina. Se estableció el alto contenido de alcaloides pirrolizidínicos en la raíz (0.76% peso seco) y en las partes aéreas (0.35% peso seco) en esta droga, por lo que se recomendó evitar el uso medicinal en cualquiera de sus formas.

TUSILAGO

Nombre científico: *Tussilago farfara* L.

Familia: Asteraceae (Compositae)

Nombres comunes: uña de caballo (español); tussilagem, unha-de-cavalo, unha-de-asno (portugués); tussilage, pas d'âne (francés); coltsfoot, horsefoot (inglés)

Partes usadas: raíz, corteza, hojas secas, brotes de flores, flores

La uña de caballo es una planta herbácea y perenne, originaria de Europa

y África, que se adapta bien en lugares húmedos. Su propagación se realiza a través de las semillas. Tiene amplio uso medicinal en Europa, Canadá y Estados Unidos. Se le atribuyen cualidades tónico estimulantes, antigripales, expectorantes, refrescantes, depurativas de la sangre y antidiarreicas. En la medicina popular, esta planta se utiliza principalmente para afecciones de las vías respiratorias y enfermedades de la piel. Para la bronquitis y la tos, se recetan las infusiones preparadas a partir de las hojas frescas o secas. Estas infusiones se endulzan con miel de abeja antes de su ingestión. Para el tratamiento de la irritación de la piel y la sarna, con el jugo extraído de las hojas machacadas se empaapa una compresa de gasa y se aplica sobre la región afectada.

Composición química: la droga cruda contiene bajos contenidos de alcaloides pirrolizidínicos. Se han identificado dos alcaloides pirrolizidínicos tóxicos: la senkirquina (0.1-150 ppm) y la senecionina (0.1-10 ppm). También, se han detectado alcaloides pirrolizidínicos no tóxicos como la tusilagina, la isotusilagina, la tusilaginina y la isotusilaginina en bajas concentraciones (< 2 ppm).

9. BIBLIOGRAFÍA

- Anonymous. Environmental Health Criteria, *Pyrrolizidine Alkaloids*. 80. Geneva: World Health Organization, 1988.
- BAH, M.; BYE, R.; PEREDA-MIRANDA, R. Hepatotoxic pyrrolizidine alkaloids from the Mexican medicinal plant *Packera candidissima* (Asteraceae: Senecioneae). *J. Ethnopharmacol.*, v. 43, p. 19-30, 1994.
- BROWN, M.S.; MOLYNEUX, R.J.; ROITMAN, J.N. A general method for high performance liquid chromatography of pyrrolizidine alkaloid free bases and N-oxides. *Phytochem. Anal.*, v. 5, p. 251-255, 1994.
- COOPER, R.A.; BOWERS, R.J.; BECKMAN, C.J.; HUXTABLE, R.J. Preparative separation of pyrrolizidine alkaloids by high-speed counter-current chromatography. *J. Chromatogr.*, v. 732, p. 43-50, 1996.
- DALY, J.M. Thirty years of discovery arthropod alkaloids in amphibian skin. *J. Nat. Prod.* v. 61, p. 162-172, 1998.
- GRASER, G.; HARTMANN, T. Biosynthesis of spermidine, a direct precursor of pyrrolizidine alkaloids in root of cultures of *Senecio vulgaris*. *Planta*, v. 211, p. 239-245, 2000.
- HUONG, D.T.; MARTIN, M.-T.; LITAUDON, M.; SÉVENET, T.; PAÏS, M. Pyrrolizidine alkaloids from *Amphorogyne spicata*. *J. Nat. Prod.*, v. 61, p. 1444, 1998.
- HUXTABLE, R.J. Activation and pulmonary toxicity of pyrrolizidine alkaloids. *Pharmacol. Ther.* v. 47, p. 371-389, 1990.
- KREBS, H.C.; CARL, T. Retrorsine: correct assignment of quaternary carbons. *Magn. Reson. Chem.*, v. 34, p. 1046-1047, 1996.
- JUSTUS, M.; WITTE, L.; HARTMANN, T. Levels and tissue distribution of loline alkaloids in endophyte-infected *Festuca pratensis*. *Phytochemistry*, v. 44, p. 51-57, 1997.
- LINDIGKEIT, R.; BILLER, A.; BUCH, M.; SCHIEBEL, H.M.; BOPPRE, M.; HART-

- MANN, T. The two facies of pyrrolizidine alkaloids: the role of the tertiary amine and its N-oxide in chemical defense of insects with acquired plant alkaloids. *Eur. J. Biochem.*, v. 245, p. 626-636, 1997.
- LOGIE, C.G.; GRUE, M.R.; LIDDELL, J.R. Proton NMR spectroscopy of pyrrolizidine alkaloids. *Phytochemistry*, v. 37, p. 43-109, 1994.
- NDJOKO, K.; WOLFENDER, J.-L.; RÖEDER, E.; HOSTETTMANN, K. Determination of pyrrolizidine alkaloids in *Senecio* species by liquid chromatography-thermospray-mass spectrometry and liquid chromatography-nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Planta Medica*, v. 65, p. 562-566, 1999.
- OBBER, D.; HARMS, R.; HARTMANN, T. Cloning and expression of homospermidine synthase from *Senecio vulgaris*: a revision. *Phytochemistry*, v. 55, p. 305-309, 2000.
- ROBINS, D.J. Pyrrolizidine alkaloids. *Nat. Prod. Rep.*, v. 11, p. 413-418, 1995.
- SCHOCH, T.K.; GARDNER, D.R.; STEGELMEIER, B.L. GC/MS/MS detection of pyrrolic metabolites in animals poisoned with the pyrrolizidine alkaloid riddelliine. *J. Nat. Toxins*, v. 9, p. 197-206, 2000.
- STEGELMEIER, B.L.; EDGAR, J.A.; COLEGATE, S.M.; GARDNER, D.R.; SCHOCH, T.K.; COULOMBE, R.A.; MOLINEUX, R.J. Pyrrolizidine alkaloid plants, metabolism and toxicity. *J. Nat. Toxins*, v. 8, p. 95-116, 1999.
- WITTE, L.; RUBIOLO, P.; BICCHI, C.; HARTMANN, T. Comparative analysis of pyrrolizidine alkaloids from natural sources by gas chromatography-mass spectrometry. *Phytochemistry*, v. 32, p. 187-196, 1993.
- YANG, Y.C.; YANG, J.; DOERGE, D.R.; CHAN, P.C.; FU, P.P.; CHOU, M.W. Metabolic activation of the tumorigenic pyrrolizidine alkaloid, riddelliine, leading to DNA adduct formation *in vivo*. *Chem. Res. Toxicol.*, v. 14, p. 101-109, 2001.

10. LECTURAS SUGERIDAS

- CHEEKE, P.R. *Natural toxicants in feeds, forages, and poisonous plants*. Danville: Interstate, 1998. p. 338-352.
- LIDDELL, J.R. Pyrrolizidine alkaloids. *Nat. Prod. Rep.*, v. 17, p. 455-462, 2000.
- MATTOCKS, A.R. *Chemistry and toxicology of pyrrolizidine alkaloids*. London: Academic, 1986. p. 143-146.
- ROBINS, D.J. Pyrrolizidine alkaloids. In: WATERMAN, P.G. (ed.). *Methods in plant biochemistry*. London: Academic, 1993. p. 175-195.
- ROEDER, E. Medicinal plants in Europe containing pyrrolizidine alkaloids. *Pharmazie*, v. 50, p. 83-98, 1995.
- WESTENDORF, J. Pyrrolizidine alkaloids. In: DE SMET, P.A.G-M.; KELLER, K.; HÄNSEL, R.J.; CHANDLER, R.F. (ed.). *Adverse effects of herbal drugs*. Berlin: Springer, 1992. v. 1, p. 193-226.

ALCALOIDES ESTEROIDALES

AUTORES

Fernando A. Ferreira Chiesa
Patrick Moyna

SUMARIO DO CAPÍTULO

1. Introducción
2. Propiedades generales
3. Biosíntesis
4. Clasificación
5. Características químicas y presencia en la Naturaleza
6. Métodos de detección y cuantificación
7. Propiedades biológicas
8. Principales drogas vegetales
9. Referencias
10. Lecturas sugeridas

1. INTRODUCCIÓN

Tanto los alcaloides **terpénicos** como los **esteroidales** derivan biogénicamente del acetato a través de la ruta del isopentenil pirofosfato. La incorporación del(de los) átomo(s) de nitrógeno ocurre en etapas tardías de la biosíntesis. Los procesos finales de modificación del sistema formado por la ciclación del escualeno lleva a estructuras con esqueletos de 20 a 30 átomos de carbono según el grado de modificaciones sufridas por las estructuras precursoras. Se encuentran en la Naturaleza libres o como glicósidos, en cuyo caso son denominados glicoalcaloides esteroideales.

2. PROPIEDADES GENERALES

Los alcaloides esteroideales comparten en general las propiedades de otros grupos de alcaloides, es decir, son compuestos naturales básicos, que en forma libre son solubles en solventes orgánicos, en tanto que sus sales son solubles en agua.

Han sido aislados tanto de vegetales como de animales, y en general son compuestos relativamente tóxicos o muy tóxicos, por lo que probablemente cumplan un rol defensivo en los organismos que los producen. Los mecanismos de toxicidad son diversos. Entre ellos se hallan el bloqueo selectivo de los canales de sodio, como en el caso de las batrachotoxinas, y la despolarización de las membranas de neuronas y células musculares, como en el caso de la ve-

ratridina. Muchos alcaloides de *Solanum* y *Veratrum* son teratogénicos, además de producir intoxicaciones agudas en dosis mayores.

3. BIOSÍNTESIS

La incorporación del(de los) átomo(s) de nitrógeno ocurre en etapas avanzadas de la biosíntesis de los alcaloides esteroidales. Por esta razón pueden ser considerados tanto alcaloides como derivados aminados de sus precursores esteroidales. Sin embargo, las modificaciones sufridas son de importancia crucial en la determinación del destino y función de estos compuestos, por lo que se los considera como un grupo independiente.

La incorporación de nitrógeno a la molécula puede ocurrir por tres mecanismos diferentes: 1) un mecanismo de óxido-reducción, 2) un mecanismo de sustitución, o 3) una reacción de adición a doble enlace, según se describe en la figura 1. Cuando la incorporación de nitrógeno ocurre por el mecanismo de óxido-reducción, la configuración del carbono sustituido puede conservarse o invertirse, en tanto que el mecanismo de sustitución siempre da como resultado la inversión de la configuración absoluta (Torsell, 1997).

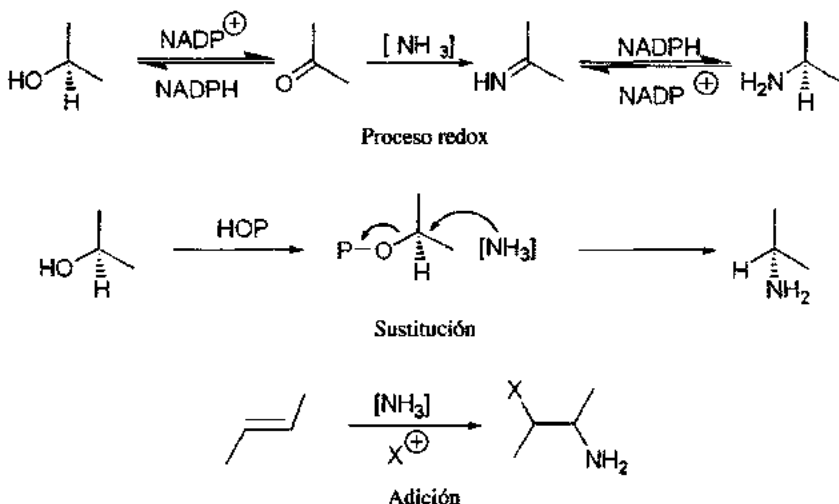


Figura 1. Mecanismos de incorporación de nitrógeno en la biosíntesis de alcaloides esteroidales. HOP: fosfato o pirofosfato

Se ha demostrado a través de estudios de incorporación de precursores marcados que los alcaloides esteroidales son biosintetizados a partir del colesterol. También es indicativo de ello el hecho de que algunos alcaloides como la tomatina, producida por la planta del tomate, *Lycopersicum esculentum*

Mill., y la solanina, producida por la planta de la papa, *Solanum tuberosum* L., poseen un esqueleto esteroide intacto (figura 2).

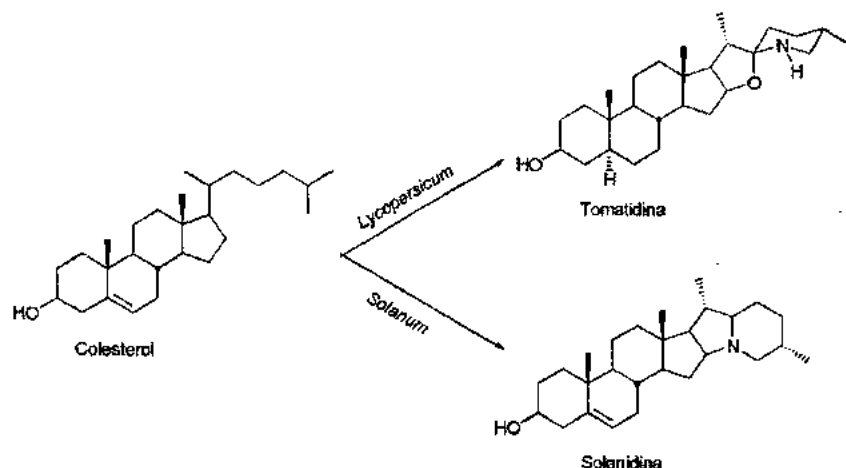


Figura 2. Biosíntesis general de alcaloides esteroidales

La incorporación de nitrógeno es precedida por la hidroxilación de la cadena lateral. El colesterol es hidroxilado específicamente sobre el carbono 26 o 27, lo que determinará posteriormente la configuración definitiva del carbono 25, como se muestra en la figura 3.

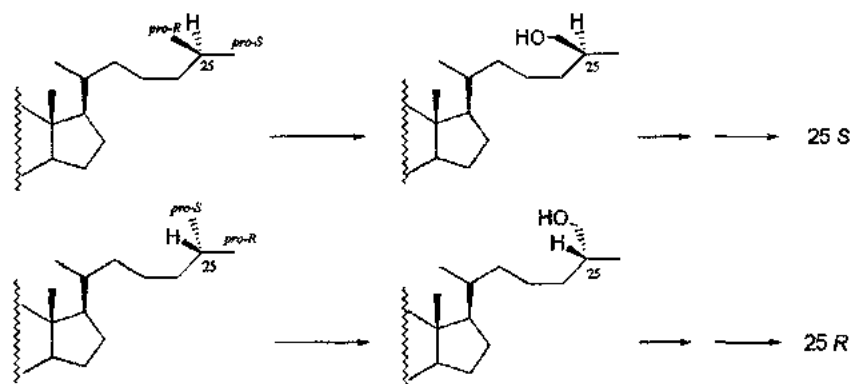


Figura 3. La hidroxilación primaria del grupo metilo 26 o 27 determina la configuración final en el carbono 25

En una segunda etapa puede ocurrir la sustitución del grupo hidroxilo por un grupo amino, o la oxidación en posición C-22. Independientemente del orden en que ocurran estas reacciones, tiene lugar con posterioridad una ci-

clación, como se muestra en la figura 4, que dará lugar a la formación de el anillo F. La activación de la posición C-16 por hidroxilación permite una nueva ciclación que puede dar origen a compuestos con dos anillos fusionados a través de un átomo de nitrógeno puente, o unidos a través de un carbono espiralístico (C-22) (Friedman y McDonald, 1997).

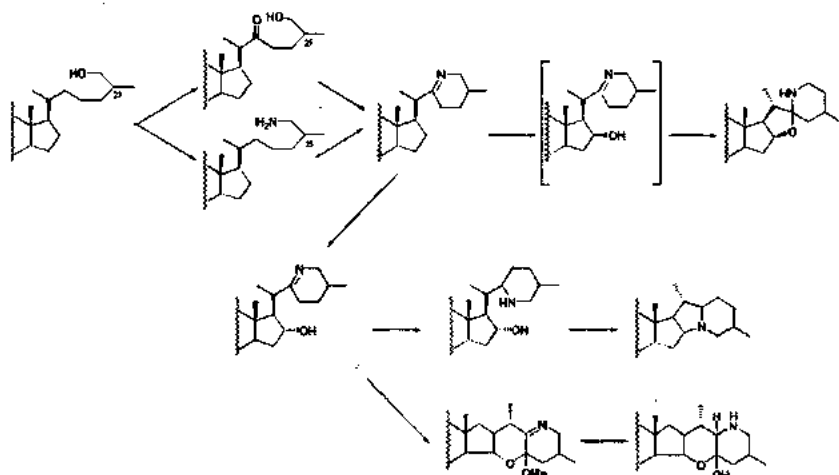


Figura 4. Formación de los anillos E y F

Estos alcaloides se encuentran tanto libres como bajo la forma de glicósidos. En este caso su biosíntesis no está totalmente definida, pero probablemente se forman por unión con azúcares activados como UDP-glicósidos (Friedman y McDonald, 1997)

4. CLASIFICACIÓN

Los alcaloides esteroidales se clasifican en base al hidrocarburo esteroidal que mejor representa la estructura general del compuesto y su configuración. De acuerdo a este criterio, se distinguen 4 grupos principales (figura 5) (Marcano y Hasegawa, 1991):

- 1 Aminopregnanos: son compuestos esteroidales de 21 átomos de carbonos producidos por la degradación de la cadena lateral del colesterol, que contienen el esqueleto del pregnano (1).
- 2 Piperidilpregnanos: son compuestos que además de conservar la estructura de 27 átomos de carbono del colesterol, presentan el átomo de nitrógeno formando parte de un ciclo de piperidina. Se clasifican a su vez en 4 subgrupos:

- 2.1 Espirosolanos (2): el anillo de piperidina está unida por un carbono espiroestánico a un anillo de tetrahydrofurano formado por ciclación de la cadena lateral.
- 2.2 Solanidanos (3): la cadena lateral se cicla formando dos anillos fusionados, con un átomo de nitrógeno puente.
- 2.3 Solanocapsinas: derivadas del 22,26-epimino-hemiacetal (4), por lo que poseen un anillo piránico y un anillo de piperidina fusionados a través de una unión hemiacetalítica.
- 2.4 Piperidinas sencillas: derivadas del piperidil pregnano (5), en las que la cadena lateral del colesterol da origen a un único ciclo de piperidina.
- 3 Alcaloides con esqueletos anormales, en los cuales la estructura de cicloperhidrofenantreno ha sido modificada.

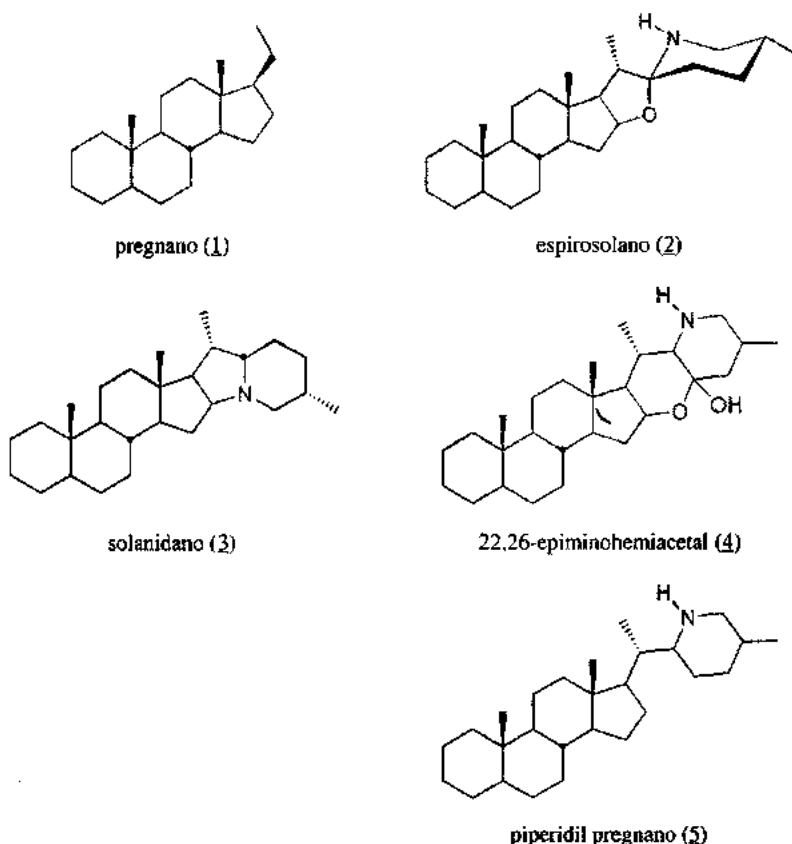


Figura 5. Principales grupos estructurales encontrados en alcaloides esteroidales

5. CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS Y PRESENCIA EN LA NATURALEZA

5.1. Aminopregnanos

Estos alcaloides son producidos principalmente por especies de la familia Apocynaceae, y en menor medida, por especies de las familias Buxaceae y Solanaceae. El nitrógeno puede estar presente formando una amina alifática, ya sea en la posición C-3, o más frecuentemente, en la posición C-20. Eventualmente, ambas posiciones pueden estar aminadas, como en la vaganina A (6), aislada de *Sarcococca vagans* Stapf (Buxaceae) (Atta-ur-Rahman y Choudhary, 1997). El nitrógeno puede formar parte de un heterociclo junto con los carbonos 20 y 21 de la cadena lateral y el carbono 18. Estos alcaloides se dicen pertenecientes a la serie de la conanina (7), y son típicos de la familia Apocynaceae (Goutarel, 1964). También se encuentran frecuentemente derivados de la 3-amino-conanina, como la conessina (8), 3-dimetilaminoconanina. El anillo heterocíclico puede encontrarse en estados de oxidación más altos, como en la kurchamida (9), aislada de *Holarrhena antidy-senterica* (L.) Wall. ex DC. (Begum et al., 1993), en la cual el nitrógeno se halla formando parte de una lactama de 5 miembros.

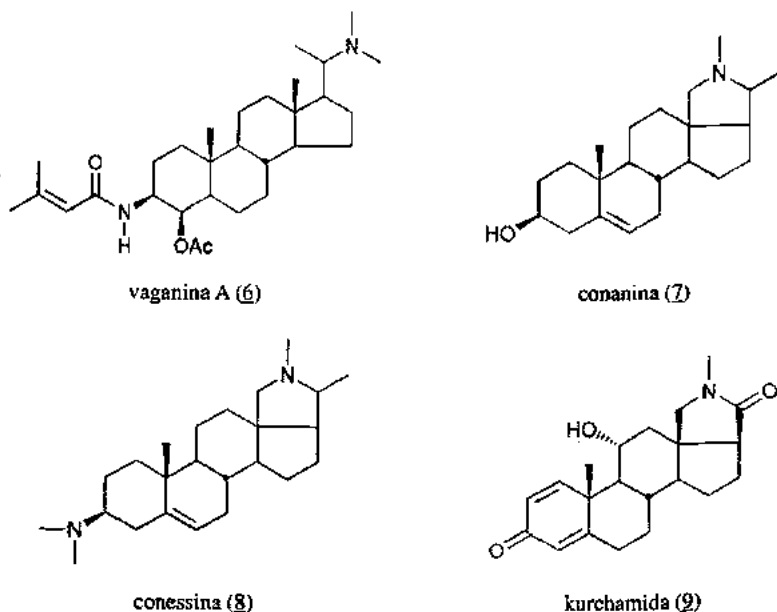


Figura 6. Aminopregnanos

5.2. 20-Piperidilpregnanos

Con frecuencia los alcaloides esteroidales C-27 son análogos a las saponinas oxigenadas encontradas en la misma planta. Al igual que éstas, suelen encontrarse bajo la forma de glicósidos, frecuentemente unidos a los mismos oligosacáridos presentes en otros glicósidos producidos por la planta.

A pesar de su similitud estructural con las saponinas esteroidales, estos alcaloides poseen una distribución más restringida entre los vegetales y se encuentran solamente en las familias Liliaceae y Solanaceae. Son particularmente abundantes en los géneros *Fritillaria* y *Veratrum* (Liliaceae) y *Solanum*, *Lycopersicum* y *Cestrum* (Solanaceae).

5.2.1. Espirosolanos.

Los espirosolanos se caracterizan por la presencia de dos anillos heterocíclicos unidos a través de un carbono espiroestánico, y muchos de ellos se encuentran naturalmente como glicósidos. El esqueleto de ciclopentanoperhidrofenantreno presenta la misma estereoquímica que en las hormonas naturales (*trans, trans, trans*) que los convierten en posibles materiales de partida para la semisíntesis de hormonas esteroidales.

La tomatina (11), el glicoalcaloide principal del tomate (*Lycopersicum esculentum* L.), es común en otras especies de tomates salvajes y en otros gé-

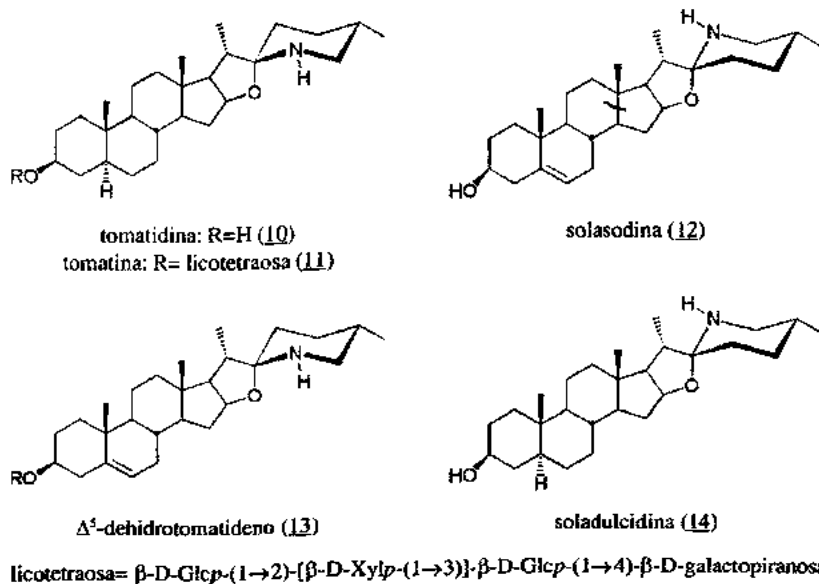


Figura 7. Espirosolanos

neros relacionados. Está formada por un tetrasacárido, la licotetraosa, unido por un enlace acetálico a la posición C-3 de la tomatidina, la que presenta la estereoquímica (25*S*, 22- β -N) (10).

También es común su esteroisómero en C-22, la solasodina (25*R*, 22 α -N) (12), la cual es empleada para la síntesis de hormonas esteroidales (Samuelson, 1992). Se encuentra también el análogo Δ^5 -insaturado de la tomatidina, el Δ^5 -dehidrotomatideno (13), y el análogo saturado de la solasodina, la soladulcicina (14), entre otros muchos.

5.2.2. Solanidanos

Los solanidanos con una estereoquímica (22- α -H, 25*S*) son los más comunes, y dentro de este grupo se incluyen la solanidina (22*R*) (15), la demissidina (22 *R*) (16) y la leptinidina (22*S*) (17), entre otros, los cuales suelen encontrarse en la planta bajo la forma de glicósidos. La solanina (18) y la chaconina (19), que son los glicoalcaloides más comunes de la papa (*Solanum tuberosum* L.), están formados por el alcaloide esteroideal solanidina (17) unido a un trisacárido, la solatriosa (20) o la chacotriosa (21), respectivamente

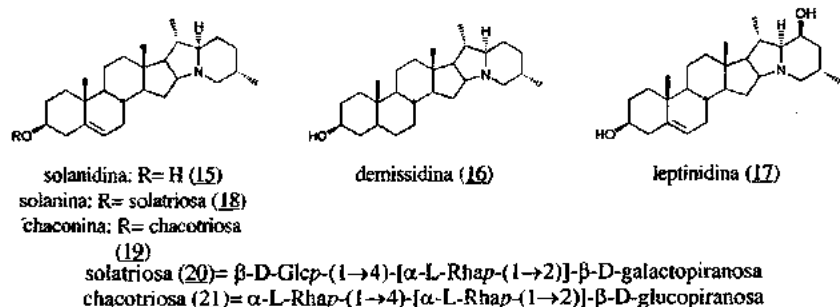


Figura 8. Espirostanos

5.2.3. Solanocapsinas

La solanocapsina (22), obtenida de *Solanum pseudocapsicum* L. fue el primer alcaloide de este tipo que se logró aislar. Este grupo se caracteriza por poseer un sistema de dos anillos heterocíclicos fusionados a través de una unión hemiacetálica. La estereoquímica de la unión de los anillos heterocíclicos puede ser *cis*, como en el caso de la pimpifolidina (23), o *trans*, como en la 22-isopimpifolidina (24), ambos aislados de una especie de tomate salvaje, *Lycopersicon pimpinellifolium* Dunal (Ripperger y Porzel, 1994).

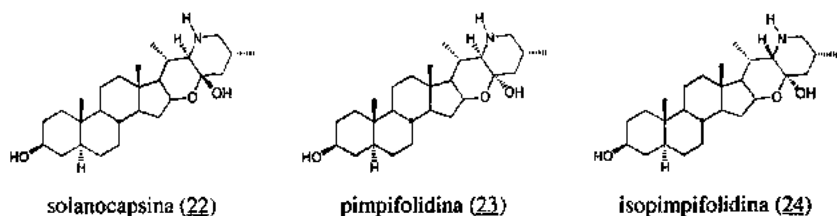


Figura 9. Solanocapsinas

5.2.4. 20-Piperidilpregnanos sencillos.

Se han encontrado alcaloides esteroidales con el anillo E abierto, principalmente en los géneros *Solanum* y *Veratrum*. Son menos frecuentes que los pertenecientes a los grupos anteriores, y pueden, en algunos casos representar precursores o intermediarios biosintéticos de otros compuestos. Ejemplos de estos alcaloides son la veralkamina (25) aislada de *Veratrum album* L. (Tomko et al., 1968) en la que se observa un rearrreglo por la migración del grupo metilo sobre el carbono 13 al carbono 17, y la oblinginina (26), aislada de *Veratrum oblongum* Loes. (Kadota et al., 1995).

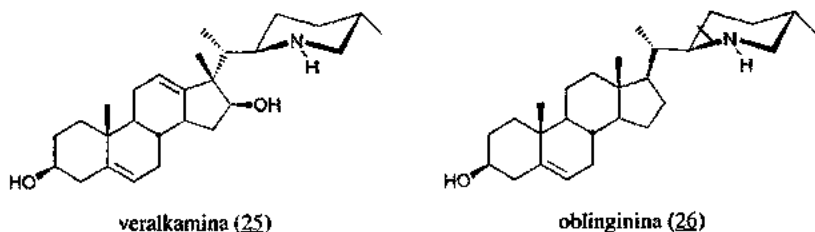
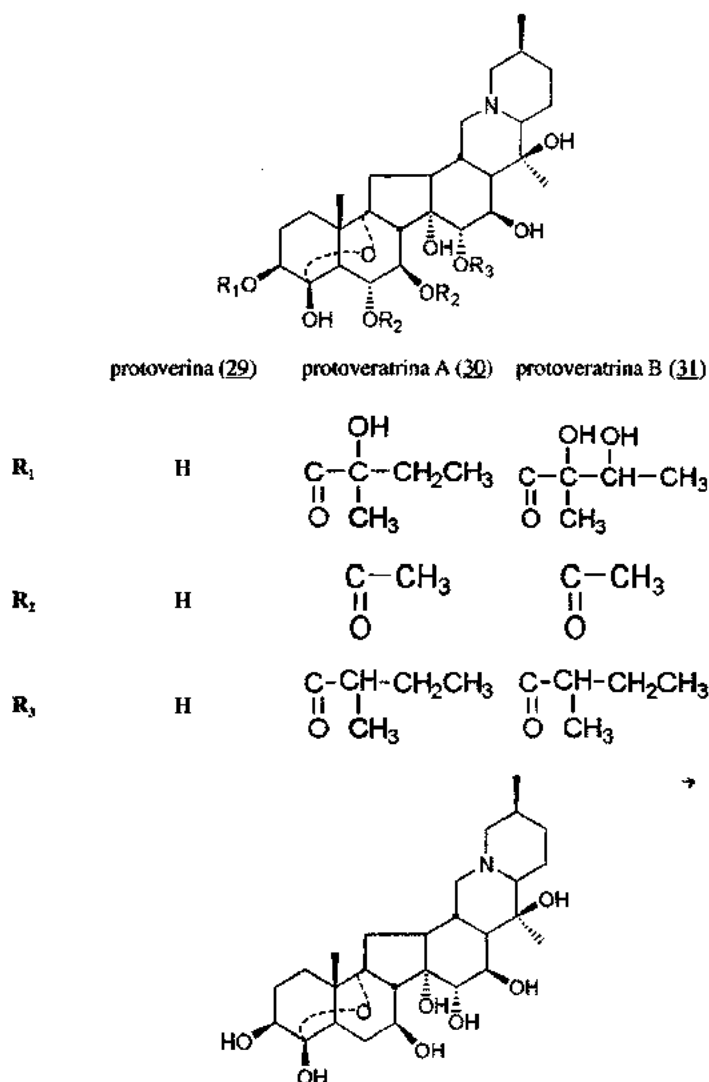


Figura 10. 22-Piperidilpregnanos sencillos

5.3. Alcaloides esteroidales con esqueletos anómalos

A diferencia de los grupos anteriores, en los cuales se mantiene el esqueleto de ciclopentanoperhidrofenantreno inalterado, en estos alcaloides se encuentran esqueletos esteroidales modificados. Dentro de este grupo se distinguen dos clases: 1) alcaloides de *Veratrum*, que presentan un esqueleto 12-nor-D-homo, y 2) alcaloides de *Buxus*, que están estructuralmente relacionados con el cicloartenol.

Figura 12. Alcaloides de *Veratrum*, grupo de la cevana

do a 7 miembros, como en el caso de el papillotrieno (34) y la N_b -demetilhappamina (35) en la que se observa además un anillo formado por el grupo α -hidroximetileno sobre el carbono 4 y el grupo N-metileno sobre posición 3. Ambos alcaloides fueron aislados de *Buxus longifolia* Boiss. [Atta-ur-Rahman et al., 1992].

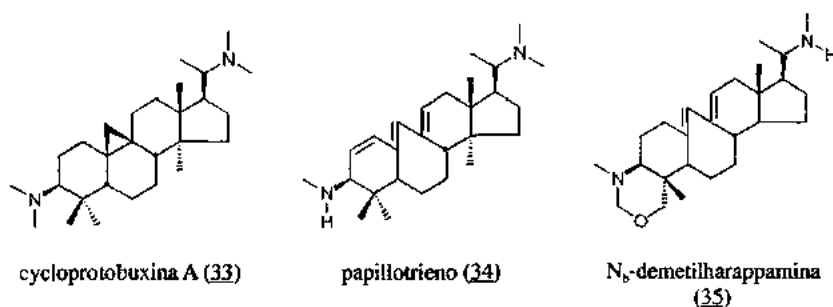


Figura 13. Alcaloides de *Buxus*

6. MÉTODOS DE DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN.

Los alcaloides esteroidales poseen las características químicas de otros alcaloides y por ello pueden emplearse para su estudio los métodos generales de aislamiento y análisis de estos compuestos. Muchos de ellos suelen encontrarse también como glicósidos, y para su detección puede emplearse la formación de espuma y la medida de la actividad hemolítica.

Debido a su importancia en agricultura y alimentación, el análisis de los alcaloides esteroidales de *Solanum* ha recibido gran atención. Se han reportado métodos gravimétricos, valoraciones ácido-base, ensayos enzimáticos e inmunoensayos (Maga, 1994). También se han desarrollado métodos cromatográficos de análisis, que son más selectivos ya que presentan menos interferencias por combinar la separación de los diferentes alcaloides y su cuantificación. Se han reportado numerosos métodos de identificación y cuantificación por Cromatografía Líquida de Alta Presión (HPLC), y Cromatografía en Capa Fina (TLC). Estos últimos métodos permiten la separación de los distintos alcaloides, y su cuantificación, empleando reactivos de coloración específicos antes de la determinación densitométrica.

Los alcaloides esteroidales pueden ser analizados por Cromatografía Gas-Líquido (GLC) ya sea como tales o de derivados más volátiles. Existen monografías recientes que cubren extensivamente los aspectos analíticos de estos compuestos (Maga, 1994; Friedman y McDonald, 1997).

7. PROPIEDADES BIOLÓGICAS

La mayoría de los alcaloides esteroidales, sean o no glicosilados, poseen diversos grados de toxicidad para mamíferos. Algunos, como los glicoalcaloides de *Solanum*, que están presentes en pequeñas cantidades en la dieta humana normal, pueden, en concentraciones mayores, dar lugar a intoxicacio-

nes alimentarias. Los síntomas incluyen desórdenes gastrointestinales y neurológicos. En casos extremos pueden, luego de un estado comatoso, producir la muerte. Por esta razón se han establecido límites máximos para el contenido de estos alcaloides en los alimentos, que oscilan, según la legislación de cada país, entre 100 y 200 mg/kg (Maga, 1994).

Otros alcaloides, en cambio, son muy tóxicos, y su ingestión puede fácilmente provocar la muerte. Los alcaloides de *Veratrum*, por ejemplo, causan envenenamiento en el ganado cuando estas especies son accidentalmente ingeridas junto con la pastura.

Muchos de estos compuestos son teratogénicos. Los del *Veratrum californicum* Durand llegan a producir formas extremas de malformaciones como la ciclopía en terneros nacidos de vacas que lo hayan ingerido de forma accidental durante la preñez. Se ha demostrado que los alcaloides de esta planta interfieren con el colesterol en su rol de mensajero químico durante el desarrollo del embrión (Cooper et al., 1998).

La toxicidad de los alcaloides esteroidales sugiere que cumplen un rol defensivo en el vegetal. Varias de las actividades biológicas reportadas para estos compuestos apoyarían esta hipótesis.

En general poseen una actividad antibacteriana leve y una actividad antifúngica más pronunciada. Esta actividad está correlacionada con la capacidad de los glicoalcaloides de desestabilizar membranas biológicas. La tomatina (11) posee un amplio espectro antifúngico y antimicrobiano, ya que es activa contra un amplio rango de hongos que incluyen *Aspergillus*, *Candida albicans* y *Trichophyton*, hongos saprofitos y aun bacterias Gram-positivas y protozoarios. Los glicoalcaloides de la papa también son activos contra hongos, entre ellos *Trichoderma viride*, *Helminthosporium carbonum*, *Fusarium caeruleum* y *Cladosporium fulvum* (Hostettmann y Marston, 1995). La solanina (18) y la chaconina (19), que suelen encontrarse como mezclas en los vegetales, poseen una actividad antifúngica leve. Sin embargo, sus mezclas presentan un efecto sinérgico que aumenta tanto su poder desestabilizante de membranas biológicas, como su actividad antifúngica (Roddick, 1988; Fewell y Roddick, 1993).

También se ha observado actividad antialimentaria (*antifeeding*), inhibidora y tóxica en muchos insectos. La tomatina, y en menor grado la solanina y la chaconina son activos contra *Leptinotarsa decemlineata* [Sanford, 1996], *Empoasca fabae* (Dahlman y Hibbs, 1967) y *Macrosiphum euphorbiae* (Güntner et al., 1997; Vázquez, 1997) entre otras plagas. El extracto crudo de los alcaloides de la semilla de la cebadilla, *Schoenocaulon officinale* A. Gray ex Benth. (Liliaceae), se utiliza como insecticida y antipediculoso. Tanto el eléboro blanco, *Veratrum album* L., como el verde, *Veratrum viride* Aiton, se utilizaron como insecticidas.

8. PRINCIPALES DROGAS VEGETALES

Los alcaloides esteroidales se emplean en farmacia principalmente como fuente de materias primas para síntesis. La solasodina (12), que posee un esqueleto esteroideal intacto y con la misma estereoquímica que las hormonas naturales, es el principal compuesto de este grupo empleado como materia prima para la síntesis de hormonas esteroidales. Los anillos E y F se pueden degradar en forma análoga a los de la diosgenina por la reacción de Marker, pero los rendimientos son algo menores (Samuelsson, 1992). Se encuentra como glicósido en *Solanum laciniatum* Aiton (Solanaceae), el cual es cultivado en Rusia, Hungría y Australia. Los frutos verdes contienen entre el 2 % y el 3 % de solasodina, pero su contenido disminuye al madurar el fruto. En India se cultiva *Solanum khasianum* C.B. Clarke con el mismo fin, ya que sus frutos son ricos en el alcaloide.

9. REFERENCIAS

- ATTA-UR-RAHMAN; ASSIF, E.; ALL, S.S.; NASIR, H.; JAMAL, S.A.; ATA, A.; FAROOQ, A.; CHOUDHARY, M.I.; SENER, B.; TURKOZ, S. New steroidal alkaloids from the roots of *Buxus papillosa*. *J. Nat. Prod.*, v. 55, p.1063-1066, 1992.
- ATTA-UR-RAHMAN; CHOUDHARY, M.I. Diterpenoids and steroidal alkaloids. *Nat. Prod. Rev.*, v. 14, p. 191-203, 1997.
- BEGUM, S.; USMANI, S.B.; SIDDIQUI, B.S.; SIDDIQUI, S. Alkaloidal constituents of the bark of *Holarrhena antidysenterica*. *Heterocycles*, v. 36, p. 717-723, 1993.
- COOPER, M.K.; PORTER, J.A.; YOUNG, K.E.; BEACHY, P.A. Teratogen-mediated inhibition of target tissue response to Shh signaling. *Science*, n. 280, p. 1603-1607, 1998.
- FEWELL, A.M.; RODDICK, J.G. Interactive antifungal activity of the glycoalkaloids α -solanine and α -chaconine. *Phytochemistry*, v. 33, p. 323-328, 1993.
- FRIEDMAN, M.; MCDONALD, G.M. Potato glycoalkaloids: chemistry, analysis, safety and plant physiology. *Crit. Rev. Plant Sci.*, v. 16, p. 55-132, 1997.
- GOUTAREL, R. *Les alcaloides stéroïdiques des Apocynacées*. Paris: Hermann, 1964.
- GÜNTNER, C.; GONZÁLEZ, A.; DOS REIS, R.; GONZÁLEZ, G.; VÁZQUEZ, A.; FERREIRA, F.; MOYNA, P. Effect of *Solanum* glycoalkaloids on the potato aphid, *Macrosiphum euphorbiae*. *J. Chem. Ecol.*, v. 23, p.1651-1659, 1997.
- HOSTETTMANN, K.; MARSTON, A. *Saponins*. Cambridge: Cambridge University, 1995.
- KADOTA, S.; CHEN, S.Z.; LI, J.X.; XU, GU-J.; NAMBA, T. A steroidal alkaloid from *Veratrum oblongum*. *Phytochemistry*, v. 38, p. 777-781, 1995.
- MAGA, J.A. Glycoalkaloids in Solanaceae. *Food Rev. Int.*, v. 10, p. 285-314, 1994.
- MARCANO, D.; HASEGAWA, M. *Fitoquímica orgánica*. Caracas: Universidad Central de Venezuela, 1991.
- RIPPERGER, H.; PORZEL, A. Pimpifolidine and 22-isopimpifolidine, 22,26-epimin-16,23-epoxy-cholestane alkaloids from the wild tomato *Lycopersicon pimpinellifolium*. *Phytochemistry*, v. 35, p. 813-815, 1994.

- RODDICK, J.G.; OSMAN, S.F.; RUNENBERG, A.L. Synergistic interaction between potato glycoalkaloids α -solanine and α -chaconine in relation to destabilization of cell membranes: ecological implications. *J. Chem. Ecol.*, v. 14, p. 889-902, 1988.
- SAMUELSSON, G. *Drugs of natural origin*. Stockholm: Swedish Pharmaceutical, 1992.
- SANFORD, L.L.; DOMEK, J.M.; CANTELO, W.W.; KOBAYASHI, R.S.; SINDEN, S.L. Mortality of potato leafhopper adults on synthetic diets containing seven glycoalkaloids synthesized in the foliage of various *Solanum* species. *Am. Potato J.*, v. 73, p. 79-88, 1996.
- TOMOKO, J.; VASSOVÁ, A.; ADAM, G.; SCHREIBER, K. Über Veralkamin, ein neuer Steroidalkaloid-typ mit 17-b-Methyl-18-nor-17-iso-Cholestan-Kohlenstoffgerüst. *Tetrahedron*, v. 24, p. 4865-4873, 1968.
- TORSELL, K.B.G. *Natural product chemistry*. Stockholm: Swedish Pharmaceutical, 1997.
- VÁZQUEZ, A. *Química y biología de solanáceas (estructura y actividad de los glicósidos del género Solanum)*. Montevideo: Facultad de Química, 1997. Tesis de Doctorado.

10. LECTURAS SUGERIDAS

- FRIEDMAN, M.; MCDONALD, G.M. Potato glycoalkaloids: chemistry, analysis, safety and plant physiology. *Crit. Rev. Plant Sci.*, v. 16, p. 55-132, 1997.
- Completa y actualizada monografía sobre los alcaloides de la papa, que abarca los más diversos aspectos, tanto científicos como aplicados. Recomendable como introducción y referencia en el tema.
- SAMUELSSON, G. *Drugs of natural origin*. Stockholm: Swedish Pharmaceutical, 1992.
- Presenta una amplia cobertura del tema, en particular desde el punto de vista de la Farmacognosia y la Farmacia.
- TORSELL, K.B.G. *Natural product chemistry*. Stockholm: Swedish Pharmaceutical, 1997.
- Completa referencia, con énfasis en los aspectos biosintéticos y ecológicos de los productos naturales.

METILXANTINAS

AUTOR

Stela Maris Kuze Rates

1. INTRODUÇÃO

Metilxantinas são constituintes químicos importantes de várias bebidas alimentícias ou estimulantes não alcóolicas, como café, chá-da-índia, guaraná, cola e chocolate, consumidas em todo o mundo, sejam como preparações caseiras ou produtos industrializados, com grande importância econômica e cultural. As mais abundantes são a cafeína, a teofilina e a teobromina (figura 1). A cafeína e a teofilina têm grande aplicação farmacêutica. A cafeína é obtida de fontes vegetais, principalmente do café. A teofilina é encontrada em pequenas quantidades no reino vegetal, sendo obtida principalmente por síntese total. Também foi relatada a presença de paraxantina (figura 1), um dos principais metabólitos ativos da cafeína no homem (Borstel, 1983), em cultura de células *in vitro* e em indivíduos jovens de café (Suzuki et al., 1992).

Em função de sua origem biogenética, não sendo originárias de aminoácidos, mas de bases púricas, e de seu caráter anfótero, pois podem se comportar como ácidos ou bases, as metilxantinas são geralmente consideradas como pseudoalcalóides. Mas, devido à sua atividade biológica marcante, distribuição restrita e presença de nitrogênio heterocíclico, muitos autores classificam as metilxantinas como alcalóides verdadeiros, denominados alcalóides purínicos.

-
1. Introdução
 2. Histórico
 3. Biogênese
 4. Distribuição e papel fisiológico
 5. Propriedades físico-químicas
 6. Métodos de extração
 7. Caracterização e doseamento
 8. Propriedades farmacológicas e emprego terapêutico
 9. Drogas vegetais clássicas
 10. Referências bibliográficas
 11. Sugestões para leitura

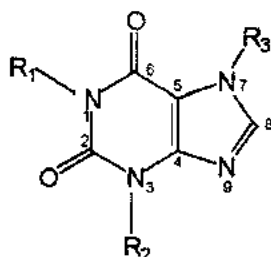


Figura 1. Principais metilxantinas. cafeína: 1,3,7-trimetilxantina; teobromina: 3,7-dimetilxantina; teofilina: 1,3-dimetilxantina; paraxantina: 1,7 dimetilxantina

2. HISTÓRICO

Bebidas contendo metilxantinas são consumidas desde tempos remotos, datando provavelmente da era paleolítica. A mais antiga delas parece ser o chá-da-índia, cuja primeira menção documentada de uso é atribuída ao imperador chinês Shen Nung, em 2737 a.C. O primeiro relato escrito do uso do café data do século X, utilizado como bebida quente na Arábia, por volta de 1000 d.C. Porém, este vegetal é cultivado na Etiópia desde 575 d.C., onde foi inicialmente utilizado triturado com gordura, como alimento e a partir da fermentação dos frutos, como vinho. O cacau também tem uma longa história. Uma bebida doce, considerada presente dos deuses e obtida a partir de fermentação, denominada chocolate, foi oferecida pelo imperador asteca Montezuma aos conquistadores espanhóis em 1519. Esta bebida foi introduzida na Europa, onde popularizou-se e, em 1876, passou a ser produzida com leite, na Suíça, de onde originaram-se as mais variadas formas, consumidas e apreciadas mundialmente (Roberts e Barone, 1983; Stefanovich, 1989).

O início do conhecimento científico das xantinas data de 1776, quando Carl Wilhelm von Scheele isolou o ácido úrico de cálculos biliares e da urina humana. Mais de 100 anos depois, em 1884, E. Fischer sugeriu que o ácido úrico e substâncias quimicamente similares poderiam ser denominadas "purinas", incluindo muitos compostos biologicamente ativos, como adenosina e metilxantinas. A cafeína foi primeiramente isolada dos grãos do café por F. Runge, em 1820. Alguns anos mais tarde, uma substância idêntica foi isolada das folhas do chá-da-índia por Ondry e denominada "teína". A teofilina ("folha divina") foi isolada por A. Kossel, em 1888, e a teobromina ("alimento divino") foi isolada das sementes do cacau por Woskresensky, em 1842. A estrutura destas metilxantinas foi elucidada em 1897, por E. Fischer. A paraxantina foi isolada da urina humana por Salomon, em 1883 (Stefanovich, 1989).

Em 1895, E. Fischer desenvolveu um método para a síntese da cafeína e da teofilina. Este método não se mostrou adequado para a síntese de outros

derivados e, em 1900, W. Traube introduziu um método mais versátil, que ainda é utilizado atualmente (Stefanovich, 1989).

3. BIOGÊNESE

Os precursores biogenéticos das metilxantinas podem ser bases púricas livres, como hipoxantina, adenina, guanina, e também nucleosídeos (Goodwin e Mercer, 1975). A adenina parece ser o precursor mais importante (Suzuki et al., 1992; Ashiara, 1993). A purina contém o anel de seis membros da pirimidina fundido com o anel de cinco membros do imidazol e é bastante rara no reino vegetal, sendo mais comumente encontrados os derivados metilados da 2,6-dioxipurina, as metilxantinas. No reino animal, os derivados da purina são resultantes da quebra de ácidos nucleicos ou via biossíntese "de novo". Em vegetais superiores, o metabolismo das purinas tem sido principalmente estudado no chá-da-índia e café. Nestes vegetais, o anel purina é sintetizado, a partir de IMP (ácido inosínico ou monofosfato de inosina), pela rota da biossíntese "de novo", apresentada na figura 2. A cafeína é sintetizada a partir da xantosina, via 7-metilxantosina, 7-metilxantina e teobromina e o grupoamento doador de metilas é a S-adenosilmetionina (SAM). A metilxantina não serve como precursor direto para a cafeína, sendo catabolizada pela rota convencional de degradação das purinas, via ácido úrico (Suzuki et al., 1992).

4. DISTRIBUIÇÃO E PAPEL FISIOLÓGICO

As metilxantinas ocorrem em famílias não filogeneticamente relacionadas, com distribuição restrita principalmente a regiões tropicais e subtropicais. Mais raramente, ocorrem em zonas temperadas, como China e Japão. Aproximadamente 60 espécies vegetais, distribuídas especialmente nos gêneros *Coffea* (Rubiaceae), *Cola* e *Theobroma* (Sterculiaceae), *Paullinia* (Sapindaceae), *Ilex* (Aquifoliaceae) e *Camellia* (Theaceae = Ternstroemiaceae) contém metilxantinas.

Nos vegetais, as metilxantinas estão envolvidas no metabolismo do nitrogênio e do carbono, participando de reações de transmetilação-desmetilação. O estágio de desenvolvimento, as alterações sazonais e outros fatores ambientais, bem como métodos agrônômicos influenciam os teores de metilxantinas (Atahyde, 2000). Os teores de cafeína no chá-da-índia, por exemplo, aumentam com o crescimento do vegetal e a utilização de fertilizantes nitrogenados (Suzuki et al., 1992).

As metilxantinas podem ter significado ecológico para as plantas que as produzem, influenciando a relação entre organismos e favorecendo a adaptação do vegetal a ambientes desfavoráveis. Porém, estes papéis devem ser individualmente avaliados, pois podem diferir de vegetal para vegetal, ou mes-

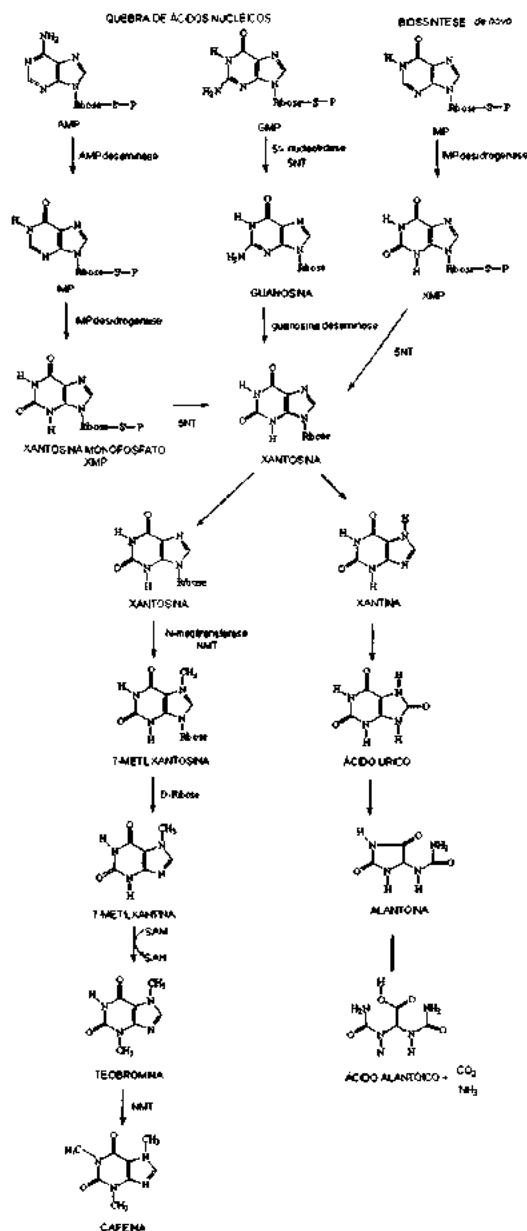


Figura 2. Rotas biossintéticas sugeridas para a cafeína nos gêneros *Coffea* e *Camellia* (Suzuki et al., 1992). AMP: monofosfato de adenosina; GMP: monofosfato de guanosina; IMP: monofosfato de inosina; XMP: monofosfato de xantossina; SAM: S-adenosilmetionina; SAH: S-adenosilmonocisteína

mo em tecidos do mesmo vegetal. Por exemplo, nas folhas de chá-da-índia (*Camellia* spp.) a cafeína está envolvida no metabolismo ativo, mas nas flores e frutos secos, a cafeína parece ser um produto final e inerte do metabolismo da planta. Nas sementes, ao contrário do que se poderia esperar, as purinas não possuem um papel nutritivo como reserva de nitrogênio, mas são alelopáticas e autotóxicas (Suzuki et al., 1992).

5. PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS

As hidroxipurinas, como o ácido úrico, ocorrem em formas tautoméricas lactima a lactama, apresentando caráter anfótero, podendo, portanto, se comportar como ácidos ou bases fracas (figura 3). Entre as metilxantinas também ocorre este equilíbrio, exceto para a cafeína, que é trimetilada e, assim, não pode formar enóis (lactima) e apresenta um caráter básico mais pronunciado, em relação às dimetilxantinas.

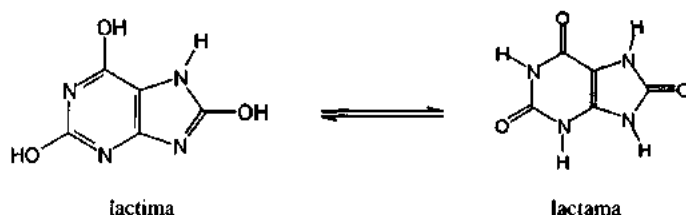


Figura 3. Formas tautoméricas do ácido úrico

As metilxantinas são solúveis em água e soluções aquosas ácidas a quente e etanol a quente, solventes orgânicos clorados e soluções alcalinas. Para as soluções alcalinas é preferível a utilização de hidróxido de amônio, pois os hidróxidos alcalinos decompõem as metilxantinas com liberação de gás carbônico e amoníaco (Costa, 1967a; Paris e Moyse, 1976; Bruneton, 1993).

Cafeína, teofilina e teobromina podem ser diferenciadas em função de sua solubilidade, temperatura de sublimação e faixa de fusão dos respectivos sublimados (British, 1988; Farmacopeia Internacional, 1996; The Merck Index, 1996) (tabela 1):

6. MÉTODOS DE EXTRAÇÃO

As metilxantinas são extraídas por solventes clorados em meio amoniacal ou por solventes clorados diretamente de suas soluções aquosas ácidas, pois são bases muito fracas e seus sais dissociam-se muito facilmente em água. Para obtenção de maior grau de pureza, utiliza-se o método clássico para extração de alcalóides. Também podem ser extraídas diretamente através de

TABELA I
Propriedades físicas das principais metilxantinas

Metilxantinas	Solubilidade	Sublimação	Faixa de fusão
cafeína	Água fria (1/100) e quente; etanol; clorofórmio; éter etílico; tetracloreto de carbono	Cristais prismáticos 178 - 180°C	235 - 237,5°C
teofilina	Água fervente e soluções alcalinas. Levemente solúvel em água fria, etanol e clorofórmio.	Funde sem sublimar.	269 - 274°C
teobromina	Soluções ácidas ou alcalinas. Levemente solúvel em água fria ou fervente e em etanol.	Cristais aciculares pequenos 290 - 295°C	350°C

métodos de sublimação e de extração com fluido supercrítico (Brien et al., 1991; Bruneton, 1993; Robers et al., 1996; Ramalakshmi e Raghavan, 1999).

7. CARACTERIZAÇÃO E DOSEAMENTO

As metilxantinas em soluções diluídas não são precipitadas pelo reativo de Mayer, mas precipitam com taninos, com o reativo de Dragendorff ou com soluções de iodo/iodeto em meio ácido. A principal reação de caracterização é denominada "reação da murexida". O nome murexida vem de *Murex*, uma lesma do mar que contém uma matéria corante púrpura. O fundamento desta reação baseia-se numa cisão oxidativa em aloxano e ácido dialúrico e posterior formação de um complexo amoniacal, purpurato de amônio, de cor violácea (figura 4).

A caracterização pode também ser realizada em CCD utilizando-se preferencialmente gel de sílica GF₂₅₄ impregnada com vapores de amônia e sistema eluente composto de clorofórmio (ou diclorometano) e etanol (ou metanol) até 5%. Outra possibilidade é a utilização de um sistema eluente ácido como, por exemplo, uma mistura de ácido acético, metanol e acetato de etila (1:1:8 v/v/v), mas com resolução menos satisfatória na separação das três principais metilxantinas. Para revelação, são empregados reveladores a base de iodo em meio ácido e também o princípio da reação de murexida; sob luz ultravioleta, as metilxantinas apresentam extinção de fluorescência (Svendsen e Verpoorte, 1983; Wagner et al., 1996).

Os métodos de doseamento incluem gravimetria, iodometria, espectrofotometria no UV e métodos cromatográficos, como CLAE. A Farmacopéia Brasileira, 3 ed., preconiza o doseamento gravimétrico da cafeína na pasta de guaraná, com adição de carbonato de sódio e óxido de chumbo (pode-se utilizar areia) para deslocamento da cafeína complexada com taninos e outros in-

de risco, visto a toxicidade do solvente empregado. As metilxantinas também podem ser caracterizadas, separadas e quantificadas através de CLAE. Em amostras vegetais, pode-se empregar a quantificação a partir de extratos clorofórmicos amoniacais secos e retomados na fase móvel. Usualmente emprega-se coluna RP 18, fase móvel composta de mistura em proporções variáveis de metanol e água (p. ex. 40:60 v/v; 25:75, v/v) e detecção em 275 nm (Campos, 1996; Andrade, 1996). Para determinação de cafeína em bebidas estimulantes ou refrigerantes, pode-se empregar como fase móvel um gradiente de bifosfato de sódio 0,02 M (pH 7,0) e metanol (Marx e Maia, 1990).

8. PROPRIEDADES FARMACOLÓGICAS E EMPREGO TERAPÊUTICO

As metilxantinas apresentam um amplo espectro de atividades farmacológicas, agindo sobre os sistemas nervoso central, cardiovascular, renal e digestivo; sobre o metabolismo de carboidratos e lipídeos, estimulando a lipólise, entre outros (Sawynok, 1995). Os efeitos são qualitativamente semelhantes, mas quantitativamente diferentes e, em função da potência, as diferentes metilxantinas são empregadas com diferentes finalidades terapêuticas (Stefanovich, 1989; Reynolds, 1993). Entre estes efeitos, pode-se destacar:

- *sobre o sistema nervoso central*: são estimulantes, facilitam a atividade cortical, inibem o sono, diminuem a sensação de fadiga; estimulam os centros respiratórios e vasomotores bulbares, reduzindo a sensibilidade dos quimiorreceptores ao dióxido de carbono; existem controvérsias se esta atividade é mais marcante para a cafeína ou para a teofilina;

- *sobre o sistema cardiovascular*: possuem ação inotrópica positiva; aumentam a frequência e os débitos cardíaco e coronariano. A teofilina possui efeito mais marcante. A cafeína causa vasoconstrição do sistema vascular cerebral e vasodilatação periférica, agindo também como vasodilatador coronariano periférico;

- *sobre a musculatura lisa*: a teofilina e, menos acentuadamente, a teobromina, induzem um relaxamento não específico da musculatura brônquica, das vias biliares e dos ureteres;

- *sobre a musculatura estriada*: estimulam a contração, reduzindo a fadiga muscular; este efeito é mais pronunciado para a cafeína;

- *sobre a diurese*: a teobromina e a teofilina aumentam o débito sanguíneo renal e a filtração glomerular, possuindo uma atividade diurética notável; o efeito é mais duradouro para a teobromina.

O mecanismo de ação destes fármacos envolve a indução do acúmulo de AMPc, através da inibição da atividade da enzima fosfodiesterase, a mobilização do cálcio intracelular e, principalmente, o bloqueio de receptores adenosina, especialmente A_1 e A_{2A} (Borstel, 1983; Stefanovich, 1989; Sawynok, 1995; Fredholm et al., 1999).

A farmacocinética das metilxantinas é dependente de vários fatores como idade, peso, tabagismo, regime alimentar, insuficiência hepática e outras condições patológicas, sendo necessária a adoção de uma terapia individualizada. A absorção por via oral é boa. A cafeína, por exemplo, é rápida e completamente absorvida (99%) no trato gastrointestinal e os picos plasmáticos são obtidos em 15 a 45 minutos. O metabolismo é hepático, sendo os principais metabólitos da cafeína no homem a parametilxantina (70%), a teofilina e a teobromina. A excreção é urinária e o tempo de meia-vida da cafeína está entre 5 e 6 horas (Borstel, 1983; Sawynok, 1995).

A cafeína entra na composição de diversas especialidades analgésicas, antipiréticas e antigripais, associada com ácido acetilsalicílico, paracetamol, codeína, e com diidroergotamina, no alívio ou abortamento de crises de enxaqueca. A sua eficácia em associações com paracetamol e ácido acetilsalicílico destinados ao alívio de dores de cabeça tem sido documentada em vários ensaios clínicos (Diamond, 1999). Além disso, a cafeína, como fármaco isolado, tem sido utilizada como sonolítico, anti-enxaquecoso, especialmente na enxaqueca resultante de punção lombar, na depressão respiratória em neonatos, na hipotensão pós-prandial e na terapia eletroconvulsiva para aumentar a duração das convulsões (Sawynok, 1995; PDR, 1998). Nos Estados Unidos também é disponível uma formulação farmacêutica injetável para uso como auxiliar às medidas de suporte em casos de intoxicação com depressores do sistema nervoso central, como álcool e analgésicos narcóticos. No entanto, em função de sua ação não duradora, este uso combinado como analéptico tem sido questionado.

Bebidas contendo cafeína ou preparados a base de guaraná são amplamente utilizados na medicina popular como estimulantes, tônicos e revigorantes. De fato, a cafeína é considerada a substância psicoativa mais consumida em todo o mundo. Ela apresenta um importante efeito sobre o estado de alerta, e suas propriedades estimulantes parecem também ser mediadas pelo sistema dopaminérgico. Porém, de uma maneira diversa de outros estimulantes, como cocaína e anfetamina, que agem ativando receptores D_1 no núcleo *accumbens*, a cafeína aumenta a transmissão dopaminérgica via receptores D_2 e D_{2A} . Existem também evidências experimentais de que a cafeína apresenta propriedades reforçadoras. Mas este efeito é muito mais suave do que aquele observado com outros estimulantes centrais e segue um perfil bifásico: em baixas doses é reforçadora, e em altas doses é aversiva (Fredholm et al., 1999).

A toxicidade e os efeitos adversos da cafeína têm sido objeto de intensos estudos. A dose letal é estimada em 5 a 10 g para um adulto, mas casos de intoxicação fatal são raros, sendo relatados com concentrações plasmáticas acima de 80 $\mu\text{g/mL}$ (Reynolds, 1993; Sawynok, 1995). Efeitos indesejáveis agudos ocorrem a partir de 1 g, correspondendo a concentrações plasmáticas de 30 $\mu\text{g/mL}$ (Sawynok, 1995). Entre eles, podem-se citar: dores de cabeça,

nervosismo, cansaço, excitação, taquicardia, diurese, face vermelha, alterações cognitivas e contração muscular. O consumo de altas doses diárias de cafeína (>600 mg) pode produzir o "cafeinismo", uma síndrome caracterizada por ansiedade, cansaço e distúrbios do sono. Indivíduos ansiosos ou que sofrem de ataques de pânico são muito mais suscetíveis a estes efeitos. A utilização crônica de cafeína foi associada a afecções cardiovasculares e eventuais efeitos teratogênico e cancerígeno. No entanto, estudos mais recentes e aprofundados não confirmam estas observações. O que parece ocorrer é uma grande correlação entre o consumo de cafeína, tabaco e álcool, podendo os referidos efeitos serem decorrentes desta associação. A administração aguda de cafeína causa elevação da pressão arterial, provavelmente por mecanismos centrais, mas com rápido desenvolvimento de tolerância. O aumento dos níveis de colesterol, anteriormente atribuído ao consumo de cafeína, atualmente tem sido creditado à presença de dois diterpenos – cafestol e caveol – existentes no café. A concentração destas substâncias é consideravelmente reduzida quando a bebida é preparada através de filtração ou percolação, ou a partir de café solúvel. Quando a bebida é preparada por decocção em água ou sob pressão (café expresso), a presença desses diterpenos é mantida e o consumo crônico pode elevar os níveis de colesterol (Fredholm et al., 1999). O efeito cancerígeno também poderia estar relacionado aos hidrocarbonetos formados ao longo dos processos de torrefação a que são submetidos todos os farmacógenos produtores de cafeína (Sawynok, 1995).

A cafeína pode produzir síndrome de retirada, quando seu uso prolongado é interrompido abruptamente. Os sintomas iniciam 12 a 24 horas após a retirada, atingindo um máximo entre 20 e 48 horas e durando aproximadamente uma semana. São eles: dor de cabeça, fadiga, letargia, apatia, tontura, insônia, tensão muscular e nervosismo (Sawynok e Yaksh, 1993).

A quantidade diária de cafeína consumida no mundo é cerca de 50 mg/pessoa/dia e é oriunda basicamente do consumo de bebidas estimulantes. Usualmente, uma xícara (175 ml) de café contém 85 a 115 mg de cafeína; uma xícara de chá-da-índia, 50 mg de cafeína e 1 mg de teofilina; uma xícara de chocolate, 4 mg de cafeína e 250 mg de teobromina; refrigerantes de cola (350 ml), 50 mg de cafeína (50% adicionada) (Roberts e Barone, 1983; Stefanovich, 1989; Sawynok, 1995). Estes valores médios podem variar, dependendo da forma de preparo das bebidas, procedência e processamento do material vegetal.

A *teofilina* é um broncodilatador utilizado para o tratamento da asma e algumas formas espásticas de bronquiopneumopatias obstrutivas, como enfisema e bronquite crônica. Outros usos eventualmente incluem apnéia do sono, apnéia neonatal, isquemia cardíaca em pacientes com *angina pectoris* estável e como auxiliar no tratamento da respiração de Cheyne-Stokes. A sua ação se deve a dois mecanismos distintos: relaxamento da musculatura brônquica, mediado pela inibição da enzima fosfodiesterase III e IV, e supressão do es-

pasma brônquico, através de um mecanismo ainda não definido, que não envolve inibição da fosfodiesterase ou antagonismo do receptor adenosina. A teofilina também aumenta a força de contração do diafragma, possivelmente devido a uma elevação do influxo de íons cálcio através de um canal iônico acoplado ao receptor adenosina. Os principais efeitos colaterais são problemas de sono, excitação, taquicardia, dores abdominais, náuseas, diarreias, hipotensão, dores de cabeça e, em casos de superdosagens, convulsões. É contra-indicada para pacientes com úlcera péptica, distúrbios convulsivos e arritmias cardíacas (PDR, 1998).

9. DROGAS VEGETAIS CLÁSSICAS

COLA

Nome científico: *Cola acuminata* (P. Beauv.) Schott et Endl.; *Cola verticillata* (Thonn.) Stapf ex A. Chev.; *Cola nitida* (Vent.) Schott et Endl.

Família botânica: Sterculiaceae

Parte utilizada: sementes

Monografias farmacopéicas: Ph. Bras. I, F. Bras. II

As colas são árvores de grande porte (10-15 m) originárias da África tropical (Costa do Marfim, Nigéria, Gabão) e cultivadas na América do Sul e Caribe. A parte utilizada é a semente destituída de tegumento (“noz-de-cola”). Nas regiões de origem, as sementes são mastigadas frescas. Comercialmente, a droga é destinada à obtenção de bebidas estimulantes e refrigerantes (Roberts e Barone, 1983).

Dados químicos:

A droga apresenta teores variados de cafeína (1 a 2,5%), que pode estar complexada com derivados catéquicos. A proporção de cafeína livre é dependente do estado e forma de obtenção da droga (fresca, estabilizada ou seca), sendo maior para a droga seca. Também são encontrados traços de teobromina, catecol e epicatecol, taninos (5 a 10%) e amido (35 a 45%).

CACAU

Nome científico: *Theobroma cacao* L.

Família botânica: Sterculiaceae

Parte utilizada: sementes

Monografias farmacopéicas: Ph. Bras. I, F. Bras. II

O cacau é uma árvore originária da América tropical e cultivada no sudeste asiático, África (Costa do Marfim, Nigéria, Camarões) e América do Sul (Brasil e Equador). Sua produção mundial ultrapassa 1,5 milhões de toneladas.

O vegetal é caracterizado pela inserção direta dos frutos no tronco e ramos e pelos frutos indeiscentes e volumosos. O nome *Theobroma* significa “alimento dos deuses” e depois que Fernando Cortez o levou, em 1519, à cor-

te espanhola, onde foi empregado aromatizado com baunilha, a procura por este alimento não cessou de crescer.

As sementes submetidas a fermentação e torrefação são utilizadas para extração da manteiga de cacau e de teobromina para a indústria do chocolate. A manteiga de cacau é utilizada como excipiente graxo em alimentos e produtos farmacêuticos, mas vem sendo gradualmente substituída por produtos semi-sintéticos, de melhor conservação. A Ph. Nord. apresenta monografia de pó de cacau normatizado.

Dados químicos:

A droga é constituída de triglicerídeos e ácidos graxos (50%); compostos polifenólicos e taninos condensados (5 a 10%), os quais se oxidam durante o processo de fermentação, conferindo coloração característica à droga; 1 a 3% de metilxantinas, compostas, após a torrefação, de 0,3% de cafeína e 1,5% de teobromina (Bruneton, 1993).

GUARANÁ

Nome científico: *Paullinia cupana* Kunth. var. *typica* (cupana-yocco), *Paullinia cupana* Kunth. var. *sorbilis* (Mart.) Ducke (guaraná-de-maués)

Família botânica: Sapindaceae

Parte utilizada: sementes

Monografias farmacopéicas: Ph. Bras. I; F.Bras. II e III

O guaraná é originário da Amazônia brasileira e venezuelana e das Guianas. A espécie *Paullinia cupana* var. *sorbilis* é cultivada na Amazônia brasileira, na região de Maués. As sementes, torradas e privadas de tegumento são transformadas em pasta com água e, eventualmente, com farinha de mandioca, moldadas em "pães de guaraná" ou figuras e defumadas, durante dias, até o completo endurecimento para utilização como estimulante e revigorante pelos indígenas e na medicina popular ocidental. Na indústria de refrigerantes, os frutos são fermentados, os grãos separados mecanicamente e lixiviados com álcool.

A droga está descrita nas três primeiras edições da Farmacopéia Brasileira e sua produção e comercialização são regulamentadas pelo Ministério da Agricultura (Portaria 70/82). Para análise do guaraná é necessária, além do doseamento da cafeína, a caracterização de amido e taninos, pela presença de catequina (Marx, 1990), visto que a droga é muitas vezes adulterada ou substituída por outros produtos, como serragem e borra de café.

Dados químicos:

As sementes são constituídas de cafeína, traços de teofilina e teobromina, saponinas, taninos (12%) (catequina, epicatequina e proantocianidóis), amido (até 60%), pectinas e mucilagem. Os teores de cafeína variam de 2,5 a 5,0% nas sementes e podem chegar a 7% na pasta.

ERVA-MATE

Nome científico: *Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.

Família botânica: Aquifoliaceae

Parte utilizada: Folhas

Monografias farmacopéicas: Ph. Bras. I

A erva-mate é uma árvore nativa do sul da América do Sul, atualmente também cultivada no sul do Brasil, Argentina, Paraguai e Uruguai, onde tem grande importância econômica e cultural. As folhas estabilizadas (“sapecadas”) e rasuradas são utilizadas para preparação de bebidas alimentícias e estimulantes, como chá, “chimarrão” e “tererê”, típicas de cada região. Além disso, a droga vem também sendo consumida no mercado europeu como matéria-prima para obtenção de produtos fitoterápicos indicados como auxiliares em regimes hipocalóricos, como diuréticos e no tratamento de astenias funcionais (Bruneton, 1993; Rombi, 1991). A produção e comercialização do produto no Brasil é regulamentada pelo Ministério da Saúde, Divisão de Alimentos (Portaria 464/97) e os critérios de qualidade encontram-se fixados nas Portarias 233/98 e 234/98 da Secretaria de Vigilância Sanitária.

Dados químicos:

A droga apresenta em sua constituição química vitaminas, aminoácidos, saponinas triterpênicas (Schenkel et al., 1997), compostos fenólicos, principalmente ácido clorogênico (ác. 3-cafeoilquímico) e seus produtos de oxidação, metilxantinas (0,7 a 2,3% de cafeína, 0,3% de teobromina e traços de teofilina), além de açúcares (Graham, 1984).

CAFÉ

Nome científico: *Coffea arabica* L. e *Coffea canephora* Pierre ex A. Froehner

Família botânica: Rubiaceae.

Parte utilizada: semente

O café é uma pequena árvore nativa das zonas montanhosas do sudoeste da Etiópia e Sul do Sudão (*Coffea arabica*). Inicialmente cultivado pelos árabes, seu emprego rapidamente disseminou-se pelo mundo islâmico e foi introduzido na Europa em 1615. Com a expansão do mercado, o cultivo foi estendido às Antilhas e ao Brasil, que chegou a ser o primeiro produtor mundial. Atualmente, é cultivado na América do Sul (*Coffea arabica*), particularmente Brasil e Colômbia; na África, na Costa do Marfim, Quênia e Camarões (*Coffea canephora*) e na Ásia, na Indonésia e Sri Lanka (*Coffea arabica*).

O farmacógeno é constituído pelas sementes, destituídas do pericarpo do fruto e pode ser obtido por “via úmida” (fermentação e lavagem) ou por “via seca” (secagem e retirada mecânica da casca). A droga é utilizada para manufatura de uma bebida estimulante e alimentícia, o café, e para extração de cafeína. A descafeinação pode ser realizada de forma direta ou indi-

reta. Os métodos mais empregados são discutidos por Ramalakshmi e Raghvan (1999).

Nos métodos diretos, geralmente os grãos de café são umedecidos com vapor de água antes de serem submetidos à extração contínua ou por imersão no solvente. O solvente, rico em cafeína, é separado dos grãos, que são novamente umedecidos e, posteriormente, dessecados sob vácuo e/ou torrados. Como solventes, são empregados diclorometano, dióxido de carbono supercrítico ou óleo obtido de grãos de café não aproveitáveis para outros processos. O diclorometano dissolve seletivamente a cafeína, preservando açúcares, peptídeos e ingredientes flavorizantes, mantendo assim o sabor e o aroma do café. Contudo, é um solvente tóxico, e a agência FDA permite sua utilização desde que as concentrações residuais, no café, se situem abaixo de 10 ppm. O dióxido de carbono no estado supercrítico (~93°C, 24,5 MPa) extrai cerca de 97% do conteúdo total de cafeína nos grãos e é totalmente eliminado dos grãos em condições normais de pressão e temperatura.

Nos métodos indiretos, algumas vezes referidos como *water process*, os grãos nunca entram em contato com solventes orgânicos, eles são mergulhados em água próxima da temperatura de ebulição durante várias horas. A solução aquosa resultante é submetida a um procedimento de partição com diclorometano ou acetato de etila. A fração orgânica é então evaporada para recuperação do solvente e obtenção da cafeína. A fração aquosa remanescente é reunida aos grãos (para reabsorção dos elementos flavorizantes inicialmente extraídos com a cafeína), que serão posteriormente dessecados. A utilização de acetato de etila frequentemente é referida, de forma inadequada, como um processo "natural", visto que este é um componente de algumas frutas como maçã, pêssego e pêra. Também é utilizado pela indústria um método denominado *swiss water process*, em que se emprega carvão ativado para a adsorção da cafeína da solução aquosa.

Dados químicos:

Mais de 50% da semente seca do café verde é constituída de glicídeos, principalmente polissacarídeos. Os lipídeos representam 10 a 18% e as proteínas, 10 a 12%. É também importante a presença de lipídeos insaponificáveis, esteróis, hidrocarbonetos, tocoferóis, álcoois diterpênicos e ácidos fenólicos (cafeoilquínicos e clorogênico). O teor de cafeína é variável e depende dos processos de torrefação dos produtos do comércio: *Coffea arabica*, 0,6 a 1,8% (no comércio: 1 a 1,3%); *Coffea canephora*, 1,3 a 5,2% (no comércio: 2 a 3%). Parte da cafeína está combinada com o ácido clorogênico.

A torrefação altera a composição química das sementes: os polissacarídeos são degradados, formando pigmentos (furanos policondensados) e desenvolvendo o aroma, resultante de uma mistura extremamente complexa e variável de álcoois, aldeídos, fenóis, derivados furânicos e pirrólicos, tiofenos, etc. (Bruneton, 1993).

CHÁ-DA-ÍNDIA

Nome científico: *Camellia sinensis* (L.) Kuntze

Sinonímia: *Thea sinensis* L. = *Camellia thea* Link

Família botânica: Theaceae (Ternstroemiaceae)

Parte utilizada: folhas

O chá-da-índia é uma pequena árvore, muito ramosa, originária da Ásia continental e da Indonésia e cultivada na Índia, China, Sri Lanka, antiga URSS, Japão, Quênia e Indonésia. As folhas e botões terminais são utilizados *in natura*, aromatizados com menta e frutas ou sob forma de produtos solúveis, como chá alimentício e estimulante. A droga também vem sendo introduzida no mercado farmacêutico europeu como auxiliar em regimes dietéticos, pela sua ação lipolítica e diurética e, externamente, como antipruriginoso e emoliente em afecções dermatológicas.

O chá “verde” é obtido por estabilização e o chá “preto” (mais aromático) é obtido após fermentação e secagem. Para a obtenção dos botões terminais não florescidos (“pekoe”) é realizada a coleta manual.

Dados químicos:

As folhas não fermentadas contêm proteínas (15 a 20%), glicídeos (5%), ácido ascórbico, vitaminas do complexo B e bases púricas, especialmente cafeína (2 a 4%), polifenóis (30%): monossídeos de flavonóis e flavonas, catecóis e epicatecóis livres e esterificados pelo ácido gálico e produtos de condensação, e taninos (10 a 24%). Após a fermentação, a infusão passa de amarelo pálido (chá-verde) para vermelho castanho (chá-preto), pela oxidação dos polifenóis, em particular pela formação de benzotropolonas. O odor aromático é devido à presença de compostos voláteis, formados durante as operações de fermentação e secagem: derivados cetônicos, resultantes da degradação de carotenos; hexenal, formado pela oxidação de ácidos graxos insaturados e heterocíclicos diversos, produtos da oxidação e rearranjo estrutural de monoterpenos.

Dados farmacológicos:

Várias propriedades farmacológicas adicionais têm sido experimentalmente atribuídas ao chá-da-índia, tais como: angioprotetora e anti-radicaís livres, devido aos derivados flavânicos; antimutagênica e antitumoral (Yoshizawa et al., 1987), pela presença de compostos fenólicos; inibidora da absorção intestinal de colesterol exógeno (Bruneton, 1993; Rombi, 1991).

10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDRADE, L. *Estudo da metodologia de análise da droga vegetal guaraná*. Porto Alegre: Curso de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, 1996. (Dissertação de mestrado.)
- ASHIARA, H. Purine Metabolism and the Biosynthesis of Caffeine in Maté Leaves. *Phytochemistry*, v. 33, n. 6, p. 1427-1430, 1993.
- ATHAYDE, M. L. M. *Metilxantina e saponinas em quatro populações de Ilex para-*

- guariensis St. Hil.; *Triterpenos e saponinas em outras espécies do gênero Ilex*. Porto Alegre: Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, 2000. Tese de doutorado. 232 p.
- BORSTEL, R.W. Biological effects of caffeine. *Metabolism. Food Technol.*, p. 40-47, sept. 1983.
- BRITISH PHARMACOPOEIA. London: Her Majesty's Stationery Office, 1988.
- BRUNETON, J. *Pharmacognosie et phytochimie de plantes medicinales*. 2.ed. Paris: Lavosier, 1993.
- CAMPOS, A. M. *Desenvolvimento de extratos secos nebulizados de Ilex paraguariensis St. Hil. Aquifoliaceae (erva-mate)*. Porto Alegre: Curso de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, 1996. (Dissertação de mestrado.)
- COSTA, A. *Farmacognosia*. 3.ed. Lisboa: Calouste-Gulbenkian, 1967a. v.2.
- COSTA, A. *Farmacognosia*. 3.ed. Lisboa: Calouste-Gulbenkian, 1967b. v.3.
- DIAMOND, S. Caffeine as an Analgesic Adjuvant in the Treatment of Headache. *Headache Quarterly-Current Treatment and Research*, v. 10, n. 2, p. 119-125, 1999.
- FARMACOPEA Internacional. 3. ed. Ginebra: Organización Mundial de la Salud, 1996.
- FARMACOPÉIA Brasileira. 2. ed. São Paulo: Siqueira, 1959.
- FARMACOPÉIA Brasileira. 3. ed. São Paulo: Andrei, 1977.
- FREDHOLM, B. B.; BÄTTIG, K.; HOLMÉN, J.; NEHLIG, A.; ZVARTAU, E. E. Actions of Caffeine in the Brain with Special Reference to Factors that Contribute to its Widespread Use. *Pharmacological Reviews*, v. 51, n. 1, p. 83-133, 1999.
- GOODWIN; MERCER, E.I. *Introduction to plant biochemistry*. Oxford: Pergamon, 1975.
- GRAHAM, H. N. Maté. In: *The methylxanthine beverages and foods: chemistry, consumption, and health effects. Progr. Clin. Biol. Res.*, v.158. New York. Alan. R. Liss, 1984. p. 179-183.
- FARMACOPEA INTERNACIONAL. 3. ed. Ginebra: Organización Mundial de la Salud, 1996.
- MARX, F. Analysis of guarana seeds II. Studies on the composition of the tannin fraction. *Ztschrift Lebensm.-Unters.Forsch.*, v. 190, p. 429-431, 1990.
- MARX, F.; MAIA, J.G. Analysis of guarana (*Paullinia cupana* var. *sorbilis*). III Identification and determination of guarana beverages by HPLC analysis of caffeine and theophylline. *Quím. Nova*, v. 13, n. 4, p. 285-286, 1990.
- O'BRIEN, M. J.; SPENCE, J. E.; SKIFF, R. H.; VOGEL, G. J.; PRASAD, R. Caffeine Recovery from Supercritical Carbon Dioxide. US patent 4.996.317, 1991.
- PHARMACOPEE FRANÇAISE. 10.ed. Paris: Maisonneuve, 1982.
- PARIS, R.R.; MOYSE, H. *Matière médicale*. Paris: Masson, 1976.
- PDR GENERICS. 4. ed. Montvale: Medical Economics, 1998.
- RAMALAKSHMI, K.; RAGHAVAN, B. Caffeine in Coffee: Its Removal. Why and How? *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, v. 39, n. 5, p. 441-456, 1999.
- REYNOLDS, J.E.F. (ed.) *Martindale - the extra pharmacopeia*. 30.ed. London: Pharmaceutical, 1993.
- ROBBERS, J.E.; SPEEDIE, M.E.; TYLER, V.E. *Pharmacognosy and pharmacobiotechnology*. 9. ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1996.
- ROBERTS, H.R.; BARONE, J.J. Biological effects of caffeine. History and use. *Food Technol.*, p. 33-39, set., 1983.

- ROMBI, M. *100 Plantes medicinales. Composition, mode d'action et intérêt thérapeutique*. Paris: Romart, 1991.
- SAWYNOK, J. Pharmacological rationale for the clinical use of caffeine. *Drugs*, v. 49, n. 1, p. 37-50, 1995.
- SAWYNOK, J.; YAKSH, T.L. Caffeine as an analgesic adjuvant: a review of pharmacology and mechanism of action. *Pharmacol. Rev.*, v. 45, n. 1, p. 43-85, 1993.
- SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MONTANHA, J.A.; HEIZMANN, B.M.; ATHAYDE, M. L.; TAKETA, A. PIRES, V.S.; GUILLAUME, D. Saponins from maté (*Ilex paraguariensis*) and other South American *Ilex* species: Ten years research on *Ilex* saponins. *Ciência e Cultura*, v. 49, n. 5/6, pp. 359-363, 1997.
- STEFANOVICH, V. The xanthines. *Drug News Perspec.*, v. 2, n. 2, p. 82-88, 1989.
- SUZUKI, T.; ASHIARA, H.; WALLER, R. Purine and purine alkaloid metabolism in *Camellia* and *Coffea* plants. *Phytochemistry*, v. 31, n. 8, p. 2575-2584, 1992.
- SVENDENSEN, A.B.; VERPOORTE, R. *Chromatography of alkaloids*. Amsterdam: Elsevier, 1983.
- THE MERCK INDEX. 22.ed. New Jersey: Merck, 1996.
- WAGNER, H.; BLADT, S.; ZGAINKI, E. M. *Plant drug analysis - a thin layer chromatography atlas*. 2.ed. Berlin: Springer, 1996.
- YOSHIZAWA, S.; HORIUCHI, T.; FUJIKI, H. Antitumor promoting activity of (-)-epigallocatechin gallate, the main constituent of "tannin" in green tea. *Phytother. Res.*, v. 1, n. 1, 1987.

11. SUGESTÕES PARA LEITURA

- FREDHOLM, B. B.; BÄTTIG, K.; HOLMÉN, J.; NEHLIG, A.; ZVARTAU, E. E. Actions of Caffeine in the Brain with Special Reference to Factors that Contribute to its Widespread Use. *Pharmacological Reviews*, v. 51, n. 1, p. 83-133, 1999.
- ROBERTS, H.R.; BARONE, J.J. Biological effects of caffeine. History and use. *Food Technol.*, p. 33-39, set. 1983.
- ROMBI, M. *100 Plantes medicinales. Composition, mode d'action et intérêt thérapeutique*. Paris: Romart, 1991.
- SAWYNOK, J. Pharmacological rationale for the clinical use of caffeine. *Drugs*, v.49, n. 1, p. 37-50, 1995.
- SUZUKI, T.; ASHIARA, H.; WALLER, R. Purine and purine alkaloid metabolism in *Camellia* and *Coffea* plants. *Phytochemistry*, v. 31, n. 8, p. 2575-2584, 1992.

PLANTAS INSETICIDAS

AUTORES

Paulo Cezar Vieira
João Batista Fernandes
Cesar Cornélio Andrei

SUMÁRIO DO CAPÍTULO

1. Introdução
2. Isolamento de substâncias com atividades inseticidas e métodos para sua avaliação
3. Inseticidas de origem vegetal e plantas de uso estabelecido como inseticidas
4. Perspectivas de desenvolvimento da área
5. Referências bibliográficas
6. Sugestões para leitura

1. INTRODUÇÃO

O contínuo crescimento da população mundial, a grande competição entre o homem e insetos pelo mesmo tipo de alimentação, a transmissão de doenças e infecções hospitalares tendo como vetores os insetos, e a resistência a inseticidas existentes por alguns insetos, levam à necessidade de uma contínua busca de novos inseticidas.

O uso de inseticidas representa gastos da ordem de bilhões de dólares num esforço de controlar insetos. Tradicionalmente, os inseticidas mais usados têm sido os piretróides e os fosforados, seguidos dos organoclorados que são, atualmente, empregados no combate a insetos vetores de doenças importantes na área de saúde pública (ex.: mosquito que transmite a dengue). Esses produtos têm, entretanto, um amplo espectro de atividades e exterminam indiscriminadamente os insetos considerados pestes, bem como aqueles que são benéficos ao homem. Além disso, eles podem adquirir resistência a esses inseticidas, de tal forma que sempre haverá necessidade de aplicação de maiores quantidades, causando danos ecológicos e poluição do meio ambiente (Mariconi, 1981).

A necessidade de métodos mais seguros no controle de insetos tem estimulado a busca de novos inseticidas em plantas e um exemplo de busca bem-sucedida está no uso de piretróides, que correspondem a aproximadamente um terço de todos os inseticidas usados no mundo. As plantas têm sido uma importante fonte de

substâncias químicas com diferentes estruturas químicas e com diversas atividades contra insetos, porém o seu uso direto ou de seus extratos brutos se limita a aplicações domésticas.

Os produtos naturais inseticidas foram muito utilizados até a década de 1940. Com o surgimento dos produtos sintéticos, que foram desenvolvidos praticamente como subprodutos da pesquisa de agentes químicos biocidas durante a Segunda Grande Guerra, muito mais potentes que os naturais e também, principalmente no início, muito menos específicos no combate a pragas agrícolas, praticamente acabaram por substituir completamente os inseticidas naturais.

De uma forma bastante genérica, a utilização dos inseticidas neste século pode ser dividida em três períodos distintos. Na primeira metade do século, houve o predomínio da utilização dos chamados inseticidas naturais, tanto de origem orgânica como inorgânica. Na classe dos inorgânicos, os mais usados foram os arseniados de cálcio e chumbo (*Paris green*), derivados de cobre (calda bordalesa), enxofre em pó ou na forma de vários sulfatos, cal, fluorsilicato de bário, amoniosselenosulfito de potássio (*cryolite*) e óleos minerais derivados de petróleo (Boyce, 1974). Entre esses, os que apresentavam maior impacto ambiental e sérios prejuízos à saúde humana eram os inseticidas a base de arsênico (Carson, 1962). Quanto aos orgânicos, esses podem ser divididos em duas classes. A primeira, dos orgânicos sintéticos, representados pelos tiocianatos, ácido cianídrico, brometo de metila, dicloroetileno, óxido de etileno, tartaratos, dinitrocresóis e dinitrociclooxifenóis. A segunda, a dos inseticidas cujas substâncias ativas são produtos naturais, sendo principalmente utilizados a nicotina, normicotina e anabasina (alcalóides), os piretróides (piretrina e aletrina) e os rotenóides, seguidos em menor escala da quassina, riânia e rianodina e saba-dilha (Crosby, 1971; Boyce, 1974; Mariconi, 1981).

No período de 1950 a 1970, logo após o término da Segunda Grande Guerra, houve uma explosão na síntese e consumo de inseticidas sintéticos, tais como DDT, BHC, Aldrin, Dieldrin e Clordano. O retorno à busca de novos inseticidas naturais surgiu por dois motivos principais. O primeiro foi a capacidade de adaptação da natureza em relação à mesma sistemática de controle de insetos imposta pelo homem, ou seja, aleatória, usando os clorados e fosforados de forma absolutamente indiscriminada. Mais tarde, tornou-se claro que o processo de seleção natural escolhia os insetos resistentes e, com a reprodução destes, novas linhagens eram criadas e, como resposta, novos inseticidas. O segundo foi que, alertados por trabalhos como o de Carson (1962) no seu livro *Silent Spring* (primavera silenciosa), o homem começou a refletir um pouco mais sobre a relação inseto-planta e dessa forma passou a respeitar um pouco mais os mecanismos naturais de adaptação. É bom salientar que essa mentalidade não foi puramente ecológica, mas surgiu pela necessidade de haver maior objetividade em relação ao controle de pragas. A simples introdução de novos agentes cada vez mais tóxicos não garantia o con-

trole, a curto e médio prazos, além do fato de que a crescente poluição ambiental começava a sacrificar os próprios criadores.

Após as décadas de 50/60 ocorreu uma mudança radical na mentalidade do homem quanto ao combate às pragas agrícolas e à larga aplicação de produtos químicos nocivos para qualquer atividade. Realmente começou a fazer sentido, deixando de ser apenas uma questão filosófica, o cuidado com o meio ambiente, ou seja, foi neste período que começaram a surgir os primeiros movimentos ecológicos, de proteção ao meio ambiente. Os inseticidas sintéticos começaram a ser desenvolvidos para ter seletividade, atacando pragas específicas e não destruindo simultaneamente, como antes, inimigos naturais dos insetos-alvos. A biodegradabilidade foi outra característica desejada para que o ambiente não ficasse acumulado de substâncias tóxicas. A alta persistência no ambiente agora já não representava uma vantagem, era melhor diminuir a população de insetos-alvos no período de maior incidência do que a tentativa de erradicação total e conseqüente contaminação dos alimentos a serem consumidos. Em verdade, esses três conceitos de um “inseticida moderno” ainda constituem uma utopia e dentro de uma determinada lógica, esse tipo de produto, por si só, nunca conseguiria a completa erradicação das infestações de insetos. Ou seja, mesmo um produto apresentando todas as qualidades possíveis e desejáveis, ainda assim fatalmente se repetiria o que ocorreu há cerca de 40 anos com o DDT e outros. A natureza, através de seus próprios mecanismos, acaba se adaptando e, nesse caso, vem a resistência.

2. ISOLAMENTO DE SUBSTÂNCIAS COM ATIVIDADES INSETICIDAS E MÉTODOS PARA SUA AVALIAÇÃO

Várias são as estratégias capazes de determinar a atividade de produtos naturais contra insetos e o seu isolamento. Em geral, inicia-se com extratos brutos das plantas preparados com diversos solventes (hexano, diclorometano, acetato de etila, metanol e água). Posteriormente, os extratos ativos são fracionados através dos vários métodos cromatográficos existentes e as frações obtidas são retestadas, repetindo-se o processo até a obtenção do(s) composto(s) ativo(s) ou da mistura de compostos ativos. A escolha do bioensaio mais apropriado para determinar a atividade inseticida depende também dos hábitos dos insetos com os quais se deseja fazer o ensaio.

Para determinar a capacidade de certas substâncias de repelir insetos, utiliza-se principalmente o tratamento de folhas de plantas, que sabidamente são comidas por larvas de insetos e observa-se o consumo após este tratamento. Esse ensaio é conhecido como ensaio de disco de folha, no qual há duas possibilidades de abordagem: uma, conhecida como “ensaio que permite escolha”, em que folhas tratadas e não-tratadas (controle) são colocadas alterna-

damente em uma placa de Petri, observando-se a preferência do inseto. No outro, conhecido como "ensaio sem escolha", todas as folhas são tratadas e, conseqüentemente, o inseto não pode escolher uma sem tratamento. Nos dois casos, o inseto utilizado deve estar no seu terceiro estágio de desenvolvimento (Kubo, 1993).

Quando os insetos têm o hábito de sugar maior que o de mastigar, um outro tipo de ensaio pode ser utilizado, como o demonstrado por Kubo (1993), com a determinação da atividade fagoinibidora de substâncias isoladas de *Ajuga remota* Benth. (Lamiaceae, planta da medicina tropical) contra o afídeo *Schizaphis graminum* (percevejo-verde-do-sorgo), que inibiram a atividade alimentar do inseto ou de sua larva. Nele 350 µL da dieta (normalmente aminoácidos, sacarose, vitamina B, vitamina C, sais, traços de metais, colesterol e pH ajustado a 8,7) são colocados num frasco plástico de 1,5 cm de diâmetro por 0,5 cm de profundidade, que é coberto com parafilme; posteriormente, ele é furado com pequenos orifícios para que os insetos possam sugar e, em seguida, adaptado ao frasco que contém os afídeos. Esse último frasco pode ser um copo de requeijão, cuja tampa contém um orifício do diâmetro do primeiro.

Outra abordagem é a chamada determinação da atividade pós-ingestiva, na qual os insetos são tratados com uma dieta artificial e depois são examinados para determinação do efeito do tratamento. Os efeitos podem ser morte, como ocorre com formigas cortadeiras tratadas com extratos de folhas de mamona (Accacio-Biggi et al., 1997), mal-formação do inseto adulto, ou ainda, como observado para azadiractina, um limonóide extraído de *Azadirachta indica* A. Juss., Meliaceae, conhecida como *nim* ou *neem tree*, impedimento da ecdise e, conseqüentemente, a não-formação do inseto adulto.

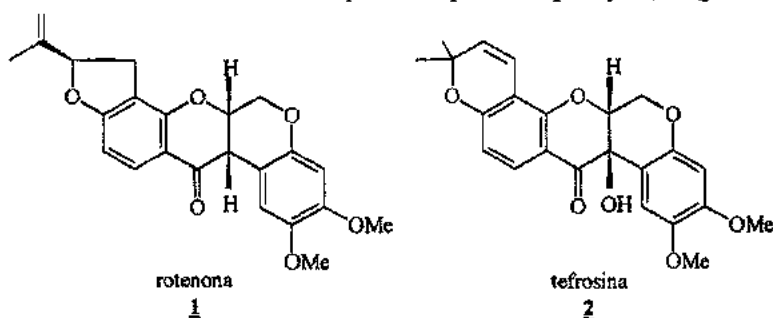
Outros ensaios para determinação de atividade inseticida podem ainda ser realizados, tal como o de atividade tóxica. O material a ser ensaiado é dissolvido em um solvente (diclorometano, acetona, acetato de etila ou água); a seguir, uma microgota dessa solução é aplicada no inseto e então se observa o índice de mortalidade em função do tempo (Elliot et al., 1988).

3. INSETICIDAS DE ORIGEM VEGETAL E PLANTAS DE USO ESTABELECIDO COMO INSETICIDAS

As principais plantas das quais são obtidas substâncias com atividade inseticida pertencem aos gêneros *Nicotiana* (Solanaceae), produtoras de nicotina e nornicotina; *Derris*, *Lonchocarpus*, *Tephrosia* e *Mundulea* (Leguminosae), produtoras de rotenóides, *Chrysanthemum* (Asteraceae), produtoras de piretrinas e *Azadirachta* (Meliaceae), produtoras de azadiractina. Além dessas, outras plantas apresentam atividade inseticida, e a seguir serão citados exemplos por classe de substâncias inseticidas já conhecidas.

3.1 Rotenóides (figura 1)

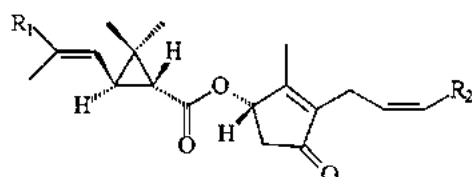
Desse grupo, a rotenona **1** é a principal substância com atividade inseticida, tendo sido usada pela primeira vez como inseticida em 1848 na Malásia. A rotenona ocorre principalmente em espécies do gênero *Derris* e *Lonchocarpus* (timbós) (Boyce, 1974), *Tephrosia* e *Mundulea* (Roy et al., 1987, Fukami e Nakajima, 1961). Os rotenóides já foram objeto de largo comércio, incluindo-se vultosas importações de países onde as espécies fornecedoras não eram nativas, como os EUA, até a metade deste século. Eram obtidos a partir da moagem das raízes secas de plantas com até 3 anos e posterior extração por decoção ou em Soxhlet com CCl_4 . Posteriormente, a fração bruta era concentrada e podia ser emulsificada com tensoativos ou diluída com querosene para sua aplicação (Rangel, 1946).



A atuação dos rotenóides pode ser tanto de contato como por ingestão. O mecanismo de atuação da rotenona se dá na cadeia respiratória (transporte de elétrons) impedindo a regeneração do NAD^+ , uma diminuição do consumo de O_2 em cerca de 95%, levando o inseto à asfixia e conseqüente morte (O'Brien, 1967).

3.2. Piretróides (figura 2)

O piretro, também conhecido como pó-da-pérsia, foi usado na região do Cáucaso e norte do Irã ainda no século XVII. Originalmente extraído das flo-



3 piretrina I

$\text{R}_1 = \text{CH}_3$

$\text{R}_2 = \text{CH}=\text{CH}_2$

4 jasmolina I

$\text{R}_1 = \text{CH}_3$

$\text{R}_2 = \text{CH}_2-\text{CH}_3$

5 cinerina I

$\text{R}_1 = \text{CH}_3$

$\text{R}_2 = \text{CH}_3$

6 piretrina II

$\text{R}_1 = \text{CO}_2\text{CH}_3$

$\text{R}_2 = \text{CH}=\text{CH}_2$

7 jasmolina II

$\text{R}_1 = \text{CO}_2\text{CH}_3$

$\text{R}_2 = \text{CH}_2-\text{CH}_3$

8 cinerina II

$\text{R}_1 = \text{CO}_2\text{CH}_3$

$\text{R}_2 = \text{CH}_3$

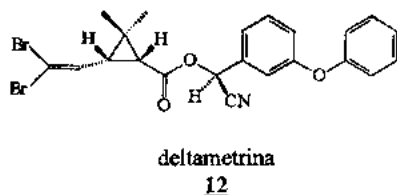
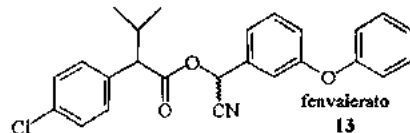
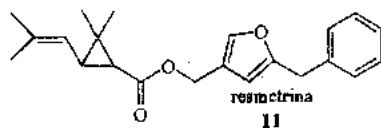
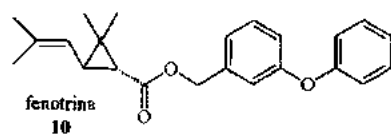
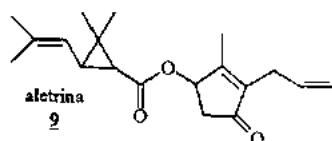


Figura 2. Exemplos de substâncias piretróides com ação inseticida

res de crisântemos (espécies do gênero *Chrysanthemum* - Asteraceae), esse inseticida foi amplamente empregado, tanto nos países que cultivavam as plantas fornecedoras quanto naqueles que as importavam. A grande vantagem, que impulsionou a utilização e pesquisas que perduram até nossos dias, é a menor toxicidade dos piretróides para mamíferos, dentre todos os inseticidas em uso (Ray, 1991), ao contrário do que se observa com relação aos insetos (Boyce, 1974). Atualmente, os piretróides praticamente dominam o mercado de inseticidas utilizados para fins residenciais, podendo ser encontradas em diversas formas, tais como líquidos, aerossóis e cartuchos empregados em pequenos aquecedores elétricos.

Os piretróides naturais são divididos em piretrinas 3 e 6, jasmolinas 4 e 7 e cinerinas 5 e 8 (Crombie, 1990). Esses produtos naturais foram muito usados até o final da década de 50, quando se tornaram superados devido a sua baixa estabilidade, tanto fotoquímica como térmica. Dessa forma, entre as décadas de 50 e 70 foi dado um grande impulso na síntese de análogos, buscando sempre a manutenção da baixa toxicidade para mamíferos e peixes, além de termo- e fotoestabilidade. Dentre os avanços podem ser destacadas as sínteses da aletrina 9 (Laforge et al., 1952), fenotrina 10, resmetrina 11 (Elliot et al., 1970; 1988). Mais recentemente, surgiram os derivados não ciclopropânicos: deltametrina 12, fenvalerato 13 e esfenvalerato 14 (Crombie, 1989).

A síntese dos piretróides pode ser apontada como um exemplo de êxito absoluto no uso de produtos naturais como protótipo, conduzindo a vários processos de obtenção de derivados considerados pouco tóxicos ao homem (Crombie, 1989; Henrick, 1994).

3.3. Quassinóides (figura 3)

A quassina 15 começou a ser usada como inseticida no final do século XVII, através da utilização dos extratos aquosos do tronco e casca de plantas da espécie *Quassia amara* L. Outras espécies dessa mesma família, pertencentes aos gêneros *Aeschynomene*, *Picrasma* e *Ailanthus* (Simaroubaceae), existentes na América Central, do Norte e Índia, também foram utilizadas por suas propriedades inseticidas (Crosby, 1971). Os quassinóides vêm sendo muito estudados atualmente, não só por suas propriedades inseticidas, mas também pelo seu potencial antileucêmico (Crosby, 1971; Addor, 1994).

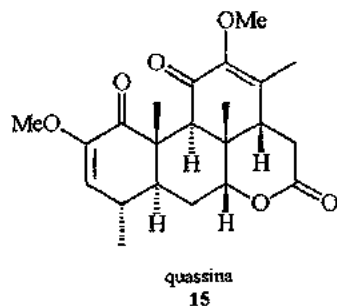


Figura 3. Exemplo de uma substância quassinóide com ação inseticida

3.4. Alcalóides (figura 4)

Estudos realizados com extratos de *Delphinium geyeri* Greene (Ranunculaceae, nome vulgar espora-do-colorado), planta com conhecida ação inseticida, mostraram que a substância isolada dessa planta e que apresentou maior atividade foi a metilcaconitina 16, inibindo os receptores da acetilcolinesterase de insetos, de forma mais potente que a nicotina (Jennigs et

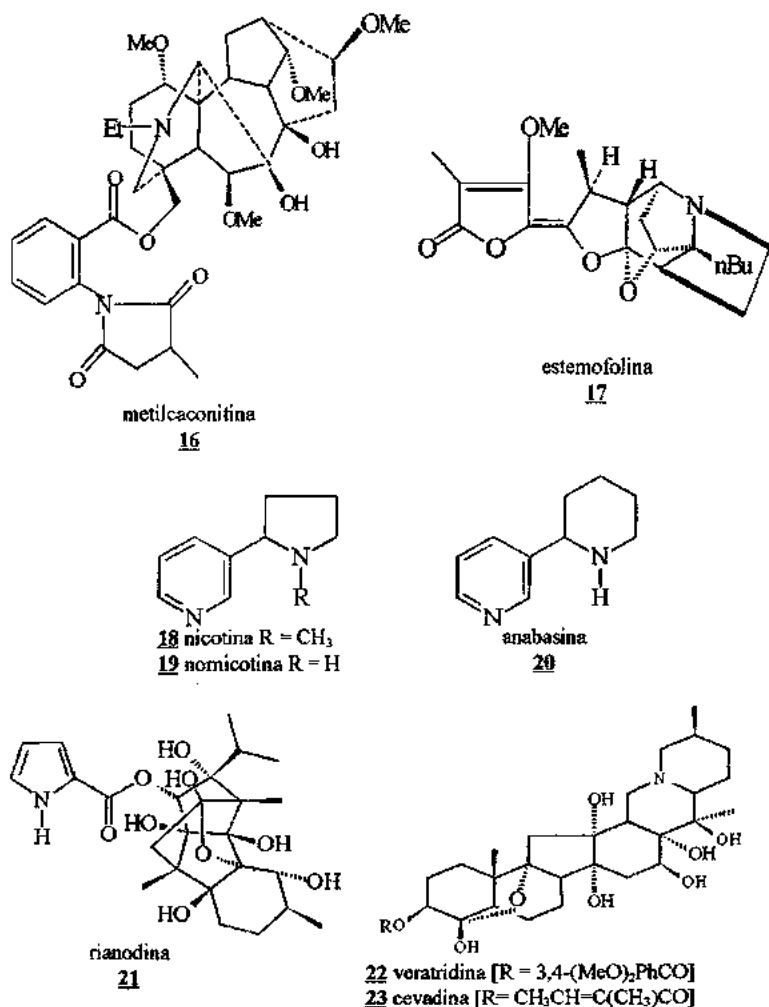


Figura 4. Exemplos de substâncias alcalóidicas com ação inseticida

al., 1986). Essa substância também mostrou atividade contra larvas de lepidópteros em ensaios de consumo foliar, tendo sido evidenciada ainda sua atividade deterrente.

Extratos das raízes de plantas da família *Stemonaceae* têm sido usados para controle de insetos na China. Para a estemofolina 17, um alcalóide isolado das folhas de *Stemona japonica* Franch. L. Sav., foi atribuída ação inseticida, provocando sintomas de toxicidade e causando a morte em larvas do bicho-da-seda (*Bombyx mori*) (Irie et al., 1970).

A nicotina, obtida de espécies de *Nicotiana*, foi empregada como inseticida, pela primeira vez, no fim do século XVII na França, sob a forma de lavagem de fumo. Esse alcalóide foi isolado em 1828 e seu emprego em larga escala data do início deste século. Junto com a nicotina 18 (alcalóide majoritário do tabaco, representando cerca de 97% da fração alcaloídica total), outros alcalóides também foram isolados: nornicotina 19, nicotimina, anabasi-na 20, isonicotefina, anatabina, nicotirina, nicotefina e outros menos importantes. A atividade inseticida é restrita à nicotina, nornicotina e anabasi-na (Mariconi, 1981; Shmeltz, 1971).

O alcalóide rianodina 21 foi isolado de várias espécies do gênero *Ryania* (Flacourtiaceae), dispersas no norte da América do Sul e bacia Amazônica. Por ser tóxica ao homem e de custo muito elevado, tem seu uso limitado como inseticida (Mariconi, 1981).

Quando os conquistadores espanhóis aportaram no Novo Mundo, em torno do ano de 1500, observaram índios que utilizavam um inseticida, que era o pó das sementes de uma planta bulbosa chamada de *crbadijla*. A saba-dilha é, na verdade, uma fonte de alcalóides veratrínicos e a ocorrência dessa classe de substâncias já verificada em gêneros da família Liliaceae: *Sabati-na*, *Veratrum* e *Zigadenus*. Na Europa, esse tipo de planta recebeu o nome de *heléboro* (Crosby, 1971).

Os alcalóides veratrínicos são substâncias esteroideais e dentre eles os de maior atividade inseticida são a veratridina 22 e a cevadina 23 (Addor, 1994).

3.5. Terpenóides (figura 5)

Os limonóides são tetranortriterpenóides e talvez os maiores representantes dessa classe como substâncias inseticidas; no entanto, monoterpenos simples, como o limoneno e mircenolol desempenham um papel de proteção contra insetos nas plantas que os produzem. Trabalhos recentes citados em revisões sobre este assunto (Addor, 1994) têm relatado o papel e ação de monoterpenos, bem como complexos terpenóides aldeídicos como, por exemplo, o gossipol, que transfere resistência a insetos em variedades de algodão.

A 1,2-epóxi-pulegona 24, um monoterpeno cetônico, é apontada como o principal componente inseticida de *Lippia stoechadifolia* (L.) Kunth da fa-

mília Verbenaceae. Ao que parece, sua ação inseticida estaria relacionada a uma inibição da acetilcolinesterase nos insetos. Os óleos essenciais de 11 plantas aromáticas gregas da família Lamiaceae mostraram atividade contra ovos, larvas e adultos de drosófilas (*Drosophila auraria*), dentre as quais *Mentha pulegium* L. (poejo) mostrou-se a mais potente (Addor, 1994).

Na revisão realizada por Picman (1986) é relatado o efeito fago-inibidor de cerca de 50 lactonas sesquiterpênicas. Extensos estudos confirmam a importância da presença de grupos funcionais, tais como α -ciclopentenona e/ou α -metileno- γ -lactona como aceptores eletrofílicos responsáveis por esta atividade. Um exemplo de substâncias desta classe é a tenulina 25. O sesquiterpeno angulatina A 26 é conhecido por sua forte ação deterrente contra vários insetos. Esta substância e outros derivados foram isolados das cascas das raízes de *Celastrus angulata* Maxim. e têm sido usados na China para proteção de plantas contra insetos. Os diterpenos tigliano 27 (isolado de *Croton tiglium* L., Euphorbiaceae), rodojaponina III 28 (isolado de *Rhododendron molle* (Blume) G. Don, Ericaceae) e o norditerpeno nagilactona D 29 (isolado de *Podocarpus gracilior* Pilg., Podocarpaceae) são outros exemplos de terpenóides com atividade fago-inibidora (Addor, 1994).

Os limonóides são também conhecidos como meliacinas e são assim denominados devido ao seu sabor amargo. Tais substâncias foram isoladas de plantas pertencentes às famílias Meliaceae, Rutaceae e Cneoraceae. Sua rota biossintética em plantas (Connolly, 1983) prevê como precursor um triterpeno que, ao final, dá origem aos tetranortriterpenóides pela perda de quatro átomos de carbono do precursor original. Esta rota biossintética envolve vários passos reacionais, conduzindo à formação das mais variadas estruturas, mas que, quase invariavelmente, contém 26 átomos de carbono no seu esqueleto básico. Os limonóides são conhecidos pelo fato de apresentarem atividade contra insetos, seja interferindo no crescimento, seja pela inibição de sua alimentação. Em um estudo, tentou-se estabelecer algumas relações estrutura-atividade inseticida, concluindo-se que, contra determinados insetos, os limonóides com o anel C-seco são os mais ativos (Champagne et al., 1992). Uma das atividades mais relevantes relatadas para plantas da família Meliaceae é a ação fago-inibidora. Atualmente, produtos comerciais com atividade fago-inibidora se encontram disponíveis como, por exemplo, Margosan-O® nos Estados Unidos da América, que contém como substância ativa a azadiractina 30. Esta substância e outros limonóides estruturalmente relacionados têm sido isolados de várias partes de plantas pertencentes à família Meliaceae (Lee et al., 1991). A azadiractina é um limonóide com o anel C-seco, e tem ocorrência restrita em duas plantas, *Azadirachta indica* A. Juss. conhecida na Índia como *neem* e *Melia azedarach* L. de origem asiática, mas introduzida em vários países, inclusive no Brasil, onde é conhecida como cinamomo ou santa-bárbara. Esta substância tem

grande potencial de uso inseticida, tendo sido isolada inicialmente por Butterworth e Morgan (1968). Em 1975, Zanno et al. propuseram sua estrutura que, posteriormente, foi corrigida por Kraus et al. (1985).

A azadiractina, de acordo com os trabalhos de Rembold (1989), interfere no funcionamento das glândulas endócrinas que controlam a metamorfose em insetos, impedindo o desenvolvimento da ecdise, apresentando, ainda, atividade fago-inibidora.

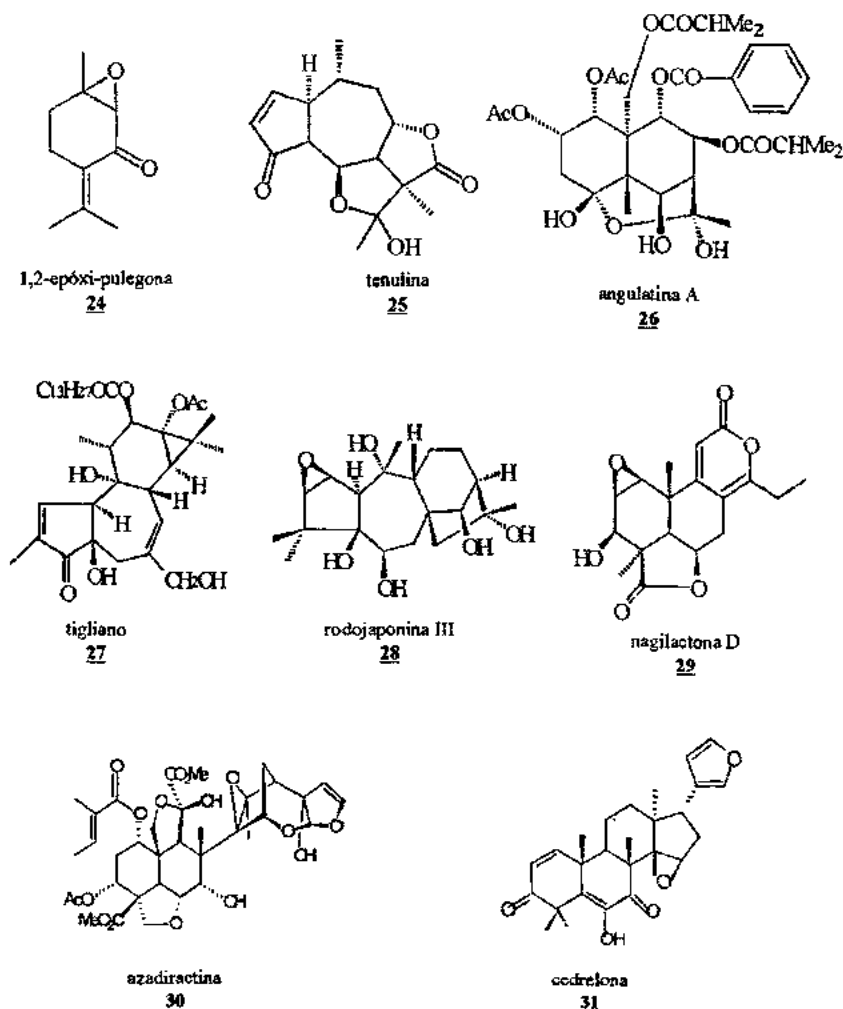


Figura 5. Exemplos de substâncias terpenóides com ação inseticida

Muitos outros limonóides têm sido testados com relação às atividades fagoinibidora e inibidora do crescimento de insetos; entretanto, nenhum deles mostrou a excepcional atividade da azadiractina. Entre os mais ativos encontra-se a cedrelona 31 que foi isolada de várias plantas da família Meliaceae.

3.6. Furanocumarinas e cromenos (figura 6)

As furanocumarinas são tipicamente encontradas em plantas das famílias Rutaceae e Apiaceae. Algumas, como a xantotoxina 32, são conhecidas por sua capacidade de, quando ativadas pela luz, reagir com as bases pirimídicas dos ácidos nucleicos, impedindo, assim, infestação por lagartas. Outras, como isopsoraleno 33 (furanocumarina angular), agem reduzindo a capacidade reprodutiva de algumas borboletas (*Berembaum*, 1978). Outras furanocumarinas lineares mostraram-se ativas contra as larvas do helminto (*Heliothis virescens*, Noctuidae) de botões florais de tabaco: a xantotoxina 32, psoraleno 34 e o bergapteno 35 mostraram-se também tóxicas; no entanto, estas três substâncias, mais a isopimpinellina 36, inibiram o crescimento larval por intermédio de uma atividade fagoinibidora (Klocke et al., 1989).

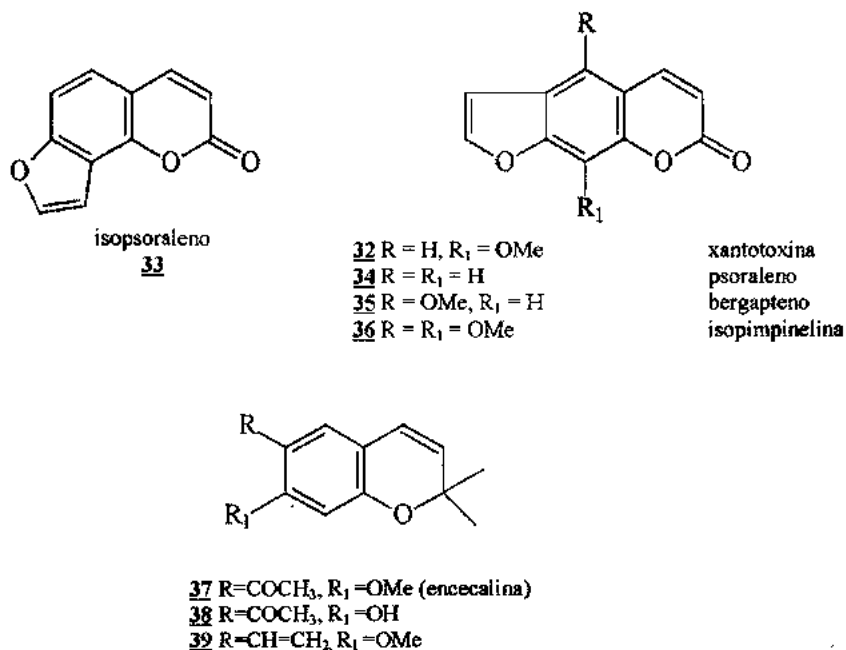


Figura 6. Exemplos de cumarinas e cromenos com ação inseticida

Cromenos (benzopiranos e benzofuranos) de diversas estruturas ocorrem em várias plantas superiores, principalmente na família Asteraceae. Sua distribuição e suas atividades biológicas foram relatadas para 167 substâncias (Proksch e Rodriguez, 1983). Além dos precocenos, conhecidos por sua capacidade de induzir metamorfose antecipada em alguns insetos através da destruição da glândula que secreta os hormônios juvenilizantes, vários outros cromenos também apresentam ação inseticida (Addor, 1994). Espécies de girassóis do gênero *Encelia* (Asteraceae) produzem a encecalina 37 e outros derivados cromênicos. A encecalina apresentou atividade fagoinibidora em lepidópteros: lagartas do algodoeiro (*Heliothis zea*, Noctuidae), larvas de mariposas (*Peridroma saucia*, Noctuidae) e larvas de *Plusia gamma*, até completa inanição (Isman, 1989). Outros cromenos reduziram populações de mosquitos (*Culex pipiens*) com o uso do óleo volátil da planta *Hemizonia fitchii* A. Gray (Asteraceae), do qual foram isolados, além da encecalina e do seu derivado fenólico 38, outro derivado 6-vinílico 39, também responsável pela atividade (Bohlmann et al., 1981).

4. PERSPECTIVAS DE DESENVOLVIMENTO DA ÁREA

Uma nova mentalidade com relação ao controle dos insetos, conjugada ao poder investigativo do homem, conduziu a uma melhor observação dos mecanismos naturais de defesa. Hoje se entende melhor que o combate a uma determinada praga não pode ser feito de uma forma unilateral.

Para o controle integrado dos insetos deve-se usar feromônios (em geral, associados a inseticidas), inimigos naturais (controle biológico), produtos naturais insetífugos, deterrentes e que induzam mutações para alcançar esterilidade nas próximas gerações, hormônios interferentes nas ecdises dos insetos e outras estratégias que busquem não a erradicação do inseto-alvo, mas sim um equilíbrio ao já desequilibrado ecossistema.

O uso da quimiossistemática pode auxiliar na obtenção de novos inseticidas naturais, buscando análogos daqueles comprovadamente ativos, citando-se como exemplo a azadiractina, que pode ser considerada como o mais recente inseticida de origem vegetal. Assim, a busca de seus análogos em plantas da família Meliaceae ou, mesmo por síntese orgânica, constitui um campo bastante promissor.

Finalizando, a busca de novos inseticidas constitui-se num campo de investigação aberto, amplo e contínuo. A grande variedade de substâncias presentes na flora continua sendo um enorme atrativo na área de controle de insetos, principalmente levando-se em consideração que apenas uma pequena parcela dessas plantas foi investigada com tal finalidade.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACCACIO-BIGGI, M.F.M.; HEBLING, M.J.; BUENO, O.C.; PAGNOCCA, F.C.; SILVA, J.A.; FERNANDES, J.B.; VIEIRA, P.C. Toxicidade de substância de origem vegetal para operárias de *Atta sexdens*. In: INTERNATIONAL PEST ANT SYMPOSIUM, 6, *Anais*, 1997. p. 124-126.
- ADDOR, R.W. Insecticides In: GODFREY, C.R.A. (ed.). *Agrochemicals from natural products*. New York: Marcel Dekker, 1994. p. 1.
- BEREMBAUM, M. Toxicity of a furanocoumarin to armyworms: a case of biosynthetic escape from insect herbivores. *Science*, v. 201, n. 5, p. 532-534, 1978.
- BOHLMANN, F.; JAKUPOVIC, J.; AHMED, M.; WALLMEYER, M.; ROBINSON, H.E. KING, R.M. Labdane derivatives from *Hemizonia* species. *Phytochemistry*, v. 20, n. 10, p. 2383-2387, 1981.
- BOYCE, A.M. In: METCALF, R.L.; MCKELVEY Jr., J.J. (ed.). *The future of insecticides. Needs and Prospects*. New York: John Wiley, 1974.
- BUTTERWORTH, J.H.; MORGAN, E.D. Isolation of a Substance that Suppresses Feeding in Locusts. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, p. 23-24, 1968.
- CARSON, R. *Primavera silenciosa*. Lisboa: Pórtico, 1962. p. 24.
- CHAMPAGNE, D.E.; KOUL, O.; ISMAN, M.B.; SCUDDER, G.G.E.; TOWERS, G.N.H. Biological Activity of Limonoids from Rutales. *Phytochemistry*, v. 31, n. 2, p. 377-394, 1992.
- CONNOLLY, J.D. Chemistry of the Limonoids of the Meliaceae and Cneoraceae. In: WATERMAN, P.G.; GRUNDON, M.F. (ed.). *Chemistry and chemical taxonomy of the rutales*. London: Academic, 1983. p. 175.
- CROMBIE, L. In: CROMBIE, L. (ed.). *Recent advances in the chemistry of insect control I*. London, Oxford: Royal Society of Chemistry, 1989.
- CROMBIE, L.; Rotenoids. In: CROMBIE, L. (ed.). *Recent advances in the chemistry of insect control II*. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 1990. p.23.
- CROSBY, D.G. Minor Insecticides of Plant Origin In: JACOBSON, M E CROSBY, D.G. (ed.). *Naturally occurring insecticides*. New York: Marcel Dekker, 1971. p. 177-178.
- ELLIOT, M.; JANES, N.F.; JEFFS, K.A. Pyrethrins and related compounds. X. Methyl-Benzyl Chrysanthemates. *Pestic. Sci.*, v. 1, n. 2, p. 49-52, 1970.
- ELLIOT, M.; FARNHAM, A.W.; JANES, N.F.; KHAMBAY, B.P.S. The pyrethrins and related compounds. Part XXXI: Alkoxyimino-substituted ester. *Pestic. Sci.*, v.22, n.3, p.231-249, 1988.
- FUKAMI, H.; NAKAJIMA, M. Synthesis of b-tubanol methyl ether. Synthesis of rotenoids. *Agric. Biol. Chem.*, v. 25, p. 252-255, 1961.
- HENRICK, C.A. Pyrethroids. In: GODFREY, C.R.A. (ed.). *Agrochemicals from natural products*. New York: Marcel Dekker, 1994. p. 63.
- IRIE, H.; MASAKI, K.; OHNO, K.; OSAKI, K.; TAGA, T.; UYEO, S. The Crystal structure of a new alkaloid stemofoline, from *Stemona japonica*. *Chem. Commun.*, p. 1066, 1970.
- ISMAN, M.B. Limonoids, phenolics, and furanocoumarins as insect antifeedants, repellents, and growth inhibitory compounds. In: ARNASON, J.T.; PHILOGÈNE, B.J.R.; MORAND, P. (ed.). *Insecticides of plant origin - ACS series N° 387*. Washington: American Chemical Society, 1989. p. 136.
- JENNINGS, K.R.; BROWN, D.G.; WHRIGHT Jr, D.P. Methylcaconitine, a naturally

- occurring insecticide with a high affinity for the insect cholinergic receptor. *Experientia*, v. 42, n. 6, p. 611-613, 1986.
- KLOCKE, J.A.; BALANDRIM, M.F.; BARNBY, M.A.; YAMASAKI, R.B. Toxicity and fate of acetylcholinesterases in pest insects. In: ARNASON, J.T.; PHILOGÈNE, B.J.R.; MORAND, P. (ed.). *Insecticides of plant origin - ACS Series N° 387*. New York: American Chemical Society, 1989. p. 44.
- KRAUS, W.; BOKEL, M.; KLENK, A.; PÖHNL, H. The structure of azadirachtin and 22,23-dihydro-23b-methoxyazadirachtin. *Tetrahedron Lett.*, v.52, n.26, p.6435-6438, 1985.
- KUBO, I. Insect Control Agents from tropical plants. In: DOWNUM, K.R.; ROMEO, J.T.; STAFFORD, H.A. (ed.). *Recent advances in phytochemistry: phytochemical potential of tropical plants*. New York: Plenum, 1993. p. 133.
- LAFORGE, F.B.; GERSDOFF, W.A.; GREEN, N.; SCHECHTER, M.S. Allethrin-type esters of cyclopropanecarboxylic acids and their relative toxicities to house flies. *J. Org. Chem.*, v. 17, n. 1, p. 381-389, 1952.
- LEE, S.M.; KLOCKE, J.A.; BARNABI, M.A.; YAMASAKI, R.B.; BALANDRIN, M.F. Insecticidal Constituents of *Azadirachta indica* and *Melia azedarach* (Meliaceae). In: HEDIN, P.H. (ed.). *Naturally occurring pest bioregulators*, ACS Symposium Series 449, Washington: ACS, 1991. p. 293.
- MARICONI, F.A.M. *Inseticidas e seu emprego no combate às pragas*. v. I, Defensivos. 5.ed. São Paulo: Nobel, 1981. p.122.
- O'BRIEN, R.D. *Insecticides action and metabolism*. London: Academic, 1967. p. 159.
- PICMAN, A.K. Biological activities of sesquiterpene lactones. *Biochem. System. Ecol.*, v. 14, n.3, p. 255-281, 1986.
- PROKSCH, P.; RODRIGUEZ, E. Chromenes and benzofuranes of the Asteraceae, their chemistry and biological significance. *Phytochemistry*, v. 22, n. 11, p. 2335-2348, 1983.
- RANGEL, V.S. Plantas inseticidas do Brasil. *Bol. Min. Agric.*, v. 35, n. 1, p. 1-34, 1946.
- RAY, D.E. Pesticides derived from plants and other organisms. In: HAYES Jr., W.J.; LAWS Jr., E.R. (ed.) *Classes of pesticides*. New York: Academic, 1991. p. 593.
- REMBOLD, H. Azadirachtins. In: ARNASON, J.T.; PHILOGÈNE, B.; MORAND, P. (ed.) *Insecticides of plant origin*. ACS Symposium Series 387, Washington: ACS, 1989. p.150.
- ROY, M.; BHATTACHARYYA, P.K.; PAL, S.; CHAUDHURY, A.; ADITYACHAUDHURY, N. Dehydrodihydrorotenone and flemichapparin-B in *Tephrosia candida*. *Phytochemistry*. v. 26, n. 8, p. 2423-2424, 1987.
- SHMELTZ, I. Nicotine and other tobacco alkaloids. In: JACOBSON, M.; CROSBY, D. G. (ed.) *Naturally occurring insecticides*. New York: Marcel Dekker, 1971. p. 99.
- ZANNO, P.R.; MUIRA, I.; NAKANISHI, K.; ELDER, D. Structure of the insect phagorepellent azadirachtin. Application of PRFT/CWD Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance. *J. Am. Chem. Soc.*, v. 97, n. 7, p. 1975-1977, 1975.

6. SUGESTÕES PARA LEITURA

- CORBETT, J.R.; WRIGHT, K.; BAILLIE, A.C. *The biochemical mode of action of pesticides*. New York: Academic, 1984. 382 p.

- ELLIOT, M. The pyrethroids: early discovery, recent advances and the future. *Pestic. Sci.*, v.27, p.337-351, 1989.
- GODFREY, C.R.A. *Agrochemicals from natural products*. New York: Marcel Dekker, 1994. 418 p.
- JACOBSON, M.; CROSBY, D.G. *Naturally occurring insecticides*. New York: Marcel Dekker, 1971. 585 p.
- ARNASON, J.T.; PHILOGÈNE, B.J.R.; MORAND, P. (ed.). *Insecticides of plant origin*. Washington: ACS, 1989. 213 p.
- HEDIN, P.A. *Naturally occurring pest bioregulators*. Washington: ACS, 1991. 455 p.
- RAY, D.E. Pesticides derived from plants and other organisms. In: HAYES Jr., W.J.; LAWS Jr., E.R. (ed.). *Classes of pesticides*. New York: Academic, 1991. 585 p.

Que mágicas infusões
dos índios herbolários
da minha pátria, entre minhas letras
o feitiço derramaram?
Sóror Juana Inés de la Cruz
(1648-1695)

ALUCINÓGENOS NATURAIS: ETNOBOTÂNICA E PSICOFARMACOLOGIA

AUTORES

Rogello Pereda-Miranda
Alexandre T. Cardoso Taketa
Ricardo A. Villatoro-Vera

SUMÁRIO DO CAPÍTULO

1. Introdução
2. Classificação dos alucinógenos
3. Drogas canabinóides
4. Drogas serotoninérgicas
5. Drogas colinérgicas
6. Referências bibliográficas
7. Sugestões para leitura

1. INTRODUÇÃO

Estava contemplando, momento a momento, o que Adão havia visto no dia da sua criação: o milagre da consciência da sua nudez. Com esta frase, na célebre obra *As portas da percepção*, Aldous Huxley (1954) inicia a descrição da sua primeira experiência alucinógena com a mescalina e, claramente, criou uma ponte através do tempo e do espaço no decorrer da evolução do gênero humano, unindo o século XX com a pré-história, na busca da árvore original do conhecimento. Estudos antropológicos recentes corroboram as hipóteses que propõem o papel decisivo dos alucinógenos naturais, como fatores químicos psicoativos na dieta dos hominídeos, no desenvolvimento da capacidade de reflexão e consciência entre os antepassados do homem moderno (Dobkin de Rios, 1996). Da mesma maneira, os psicotrópicos naturais estimularam o desenvolvimento da linguagem e sua ingestão promoveu a comunicação tribal dos "estados alterados" da percepção da realidade, a gênese xamanística das religiões. Esta procura por psicotrópicos tem uma origem fisiológica no sistema nervoso humano, independentemente de qualquer substância externa, através das endorfinas e encefalinas, os narcóticos endógenos

(Siegel, 1989). Desde tempos remotos, o homem incorporou os agentes alucinógenos naturais em seus rituais religiosos, com o objetivo de alcançar sua vinculação com a natureza e sua união com os deuses e as forças sobrenaturais. Contudo, uma pergunta não está cabalmente respondida: por que, independentemente da antiguidade das culturas do hemisfério oriental e do uso extensivo dos alucinógenos, o número de espécies de plantas psicoativas é muito maior no Novo Mundo, com um número superior a 40 espécies alucinógenas em contraste com meia dúzia de espécies nativas do Velho Mundo? Os antropólogos atribuem esta desigualdade às diferenças culturais. La Barre (1970) destaca o xamanismo como sendo o responsável por essa discrepância, já que seus praticantes e adeptos se encontram predispostos, segundo a base filosófica xamanística, a experimentar transe provocados pelos agentes alucinógenos. Assim, os xamãs, bruxos e curandeiros tradicionais exploram conscientemente ao seu redor, não somente para obter plantas terapêuticas, mas também para encontrar aquelas que facilitam "a viagem da alma", o êxtase místico. Os primeiros povoadores do continente americano introduziram as tradições xamanísticas dos povos asiáticos, as mesmas que permaneceram como a base das religiões nativas da América, inclusive naquelas das civilizações mesoamericanas e andinas com uma maior complexidade ritualística. Entretanto, no Velho Mundo estas tradições foram abandonadas em função das profundas transformações socioeconômicas e religiosas sofridas pela civilização ocidental (Furst, 1990). São poucas as culturas americanas que não utilizaram pelo menos um alucinógeno em suas cerimônias mágico-religiosas, sendo que algumas empregaram várias destas plantas. Outras também foram exploradas como estimulantes psicoativos como o tabaco (*Nicotiana tabacum* L.), a coca (*Erythroxylon coca* Lam.), o mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.) e o guaraná (*Paullinia cupana* Kunth), que desfrutaram de posições privilegiadas nas farmacopéias nativas. Neste capítulo, os principais agentes alucinógenos naturais serão abordados, segundo o ponto de vista da etnobotânica, com enfoque nos aspectos químicos e psicofarmacológicos associados às origens de seus usos religiosos.

2. CLASSIFICAÇÃO DOS ALUCINÓGENOS

Os agentes alucinógenos de origem vegetal foram aqui organizados segundo seus mecanismos primários de interferência nas atividades do SNC: drogas canabinoídicas, drogas serotoninérgicas e drogas colinérgicas muscarínicas.

Embora a maconha seja uma droga narcótica euforizante, sua substância ativa, o tetraidrocanabinol (THC) tem capacidade de provocar efeitos alucinógenos moderados pela sensibilização dos receptores CB1 do SNC, que são ativados pelo ligante natural anandamida, uma etanolamida do ácido araquidônico (figura 1). Com exceção da maconha, as drogas alucinógenas de

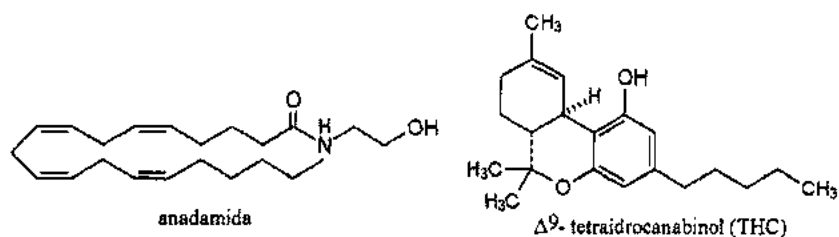
origem vegetal contêm alcalóides relacionados aos transmissores neurofisiológicos 5-hidróxi-triptamina (5-HT, serotonina) e acetilcolina.

Os alucinógenos monoamínicos são subdivididos estruturalmente em indólicos (indolalquilaminas, ex. LSD - dietilamida do ácido lisérgico) e catecólicos (feniletilaminas, ex. mescalina), e agem no SNC como resultado do reconhecimento dos receptores serotoninérgicos, visto sua analogia estrutural com a 5-HT (Rech e Commissaris, 1982).

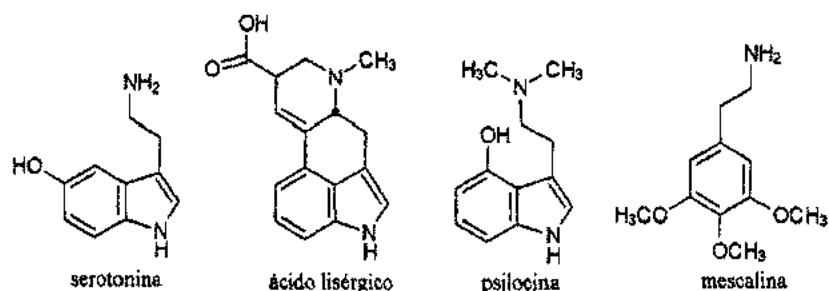
Os agentes alucinógenos monoamínicos representam um grupo diverso de drogas de origem fúngica e vegetal, deste primeiro sendo os mais representativos o ergô (*Claviceps purpurea*) e os cogumelos mexicanos (espécies dos gêneros *Conocybe*, *Panaeolus*, *Psathyrella*, *Psilocybe* e *Stropharia*). Dentre as drogas vegetais destacam-se as plantas sagradas dos antigos povos do México pré-hispânico, como os peiotes e as campainhas ou cordas-de-viola, espécies do gênero *Ipomoea*, cujos produtos bioativos compartilham o mesmo sítio de ação com os agonistas parciais dos receptores 5-HT₂ do SNC, principalmente nas regiões não-adrenérgicas do *locus coeruleus* e no córtex cerebral (Aghajanian e Marek, 1999). Nesse mesmo grupo, destacam-se as drogas vegetais empregadas nos rituais místico-religiosos dos aborígenes sul-americanos e africanos. No entanto, o número de espécies com propriedades psicoativas é muito menor do que aquelas empregadas na região mesoamericana, com um representante em cada continente: o iajé da Amazônia e a iboga das florestas africanas.

Os alucinógenos, não somente diferem pelos seus mecanismos de ação neuroquímica, mas também pelo grau de alteração qualitativa da consciência que provocam. Assim, as drogas colinérgicas divergem das drogas serotoninérgicas na indução de amnésia parcial ou total, ao longo da duração dos seus efeitos, criando um estado que pode ser melhor caracterizado como delírio ou sedação. Existem muitas plantas classificadas como alucinógenas colinérgicas e todas pertencem à família das Solanáceas, tendo como substâncias ativas os alcalóides tropânicos (ex. hiosciamina), que atuam como antagonistas dos receptores colinérgicos muscarínicos, competindo com a acetilcolina e outros agonistas fisiológicos (Brown e Taylor, 1996). O cogumelo *Amanita muscaria*, apreciado por suas qualidades alucinógenas, produz a muscarina, que age como um agonista dos receptores colinérgicos e permitiu a identificação de subtipos desses receptores, que foram designados de muscarínicos.

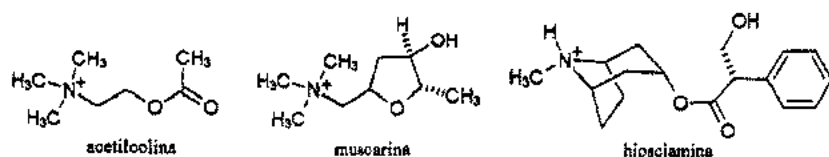
As estruturas químicas da serotonina e seus principais antagonistas naturais, a mescalina e a psilocina, são apresentadas na figura 1, destacando as semelhanças estruturais do núcleo indol-etilamínico da serotonina com o da psilocina, e do núcleo feniletilamínico do ácido lisérgico e da mescalina, os quais são requeridos para seu reconhecimento pelos receptores nas células nervosas. Também nessa figura, estão incluídas as estruturas da muscarina e da hiosciamina.



Canabinóides



Serotoninérgicos



Colinérgicos

Figura 1. Estruturas de algumas substâncias naturais alucinógenas e seus neurotransmissores fisiológicos associados.

3. DROGAS CANABINOÍDICAS

MACONHA

Nome científico: *Cannabis sativa* L.

Família botânica: Cannabaceae

Nomes comuns: maconha, cânhamo (português), marihuana, mariguana (espanhol), chanvre (francês), hemp (inglês)

Partes utilizadas: folhas, flores, sementes e resina

A maconha é uma erva anual originária do centro-oeste asiático e amplamente cultivada na Índia e em regiões tropicais e temperadas para a obtenção de fibras, sementes, folhas, flores e resinas. É uma planta dióica, cuja distinção de sexo só é possível após as fases de maturação e florescimento (Dewick, 2002). O enquadramento botânico da maconha foi alvo de discussões, durante muitos anos, tendo sido considerada, primeiramente, como membro da família das urtigas (Urticaceae), depois das figueiras (Moraceae) e, atualmente, pertence a uma família própria, Cannabaceae, que conta somente com dois gêneros: *Cannabis* e *Humulus*. Existem três espécies de maconha: *Cannabis sativa* L., *Cannabis indica* Lam. e *Cannabis ruderalis* Janisch., que se diferenciam pelo modo de crescimento, pelas características dos aquênios e, principalmente, pela estrutura de suas fibras (Schultes et al., 2000). Este gênero representa uma das plantas não alimentícias de cultivo mais antigo, e sua forma silvestre já foi extinta. Evidências arqueológicas encontradas na Tailândia indicaram que a fibra de maconha já era usada há 10.000 anos atrás.

O consumo da maconha é um fenômeno social e cultural presente em todas as sociedades. O relato medicinal e de emprego como o agente psicoativo mais antigo provém da China há 2.700 a. C., na farmacopéia do imperador Shen Nung, com recomendações para o alívio de dores, no tratamento da malária, beribéri, constipação e desordens mentais (Childers e Breivogel, 1998). O herborista Hoa-Glio aconselhava a combinação da resina da maconha com aguardente para obter efeito anestésico nas cirurgias. Porém, com o tempo, sua utilização como agente psicoativo declinou na China (Schultes et al., 2000). Os Vedas, livros sagrados da Índia, chamam a maconha de néctar divino, tendo sido amplamente empregada na medicina tradicional desse país no tratamento de delírios e lepra (Abel, 1980). Na Europa medieval, o islamismo empregava a maconha em eventos religiosos e místicos, não havendo qualquer forma de sanção social para seu uso. No ano 200 d. C., Galeno descreveu que era comum oferecer maconha para a recreação de visitantes. O relato das propriedades narcóticas da maconha chegou em Paris, através da armada de Napoleão, quando do seu regresso das campanhas no Egito (Piomelli, 1999). A Inglaterra fomentou o cultivo da maconha em suas colônias e a introduziu no continente americano, em 1632. Assim, algumas comunidades indígenas do México e da América

Central a adotaram em cerimônias sagradas e mantém-na até hoje, como por exemplo, os índios tepecanos do noroeste mexicano que empregam a maconha em seus rituais, com o nome de "rosa-maria", quando da escassez do peiote – ver item 4.3 (Schultes et al., 2000). Além dos usos citados, a maconha fornece fibras que são utilizadas, desde tempos remotos, na confecção têxtil, emprego esse que está muito em voga hoje na América do Norte e na Europa, bem como na produção de papel, no qual a Bíblia de Gutenberg e a Declaração de Independência dos Estados Unidos foram impressas (Gross, 2001). Estudos epidemiológicos indicam que a maconha é a droga ilícita mais utilizada, em todo o mundo, por adolescentes e adultos, sendo que o seu uso abusivo contribui de maneira relativamente baixa no desenvolvimento de dependência (Wittchen et al., 2001).

Dados químicos:

Já foram identificados cerca de 400 compostos químicos, destacando-se mais de 60 tipos de canabinóides, estruturas de ocorrência exclusiva no gênero *Cannabis*. O mais potente componente psicoativo é o Δ^9 -tetraidrocannabinol (THC), que foi isolado e parcialmente sintetizado em 1964 (Gaoni e Mechoulam, 1964). Outros canabinóides naturais são o Δ^8 -THC, que está presente em quantidades pequenas na planta e é levemente menos potente que o seu isômero Δ^9 -THC, o canabinol e o canabidiol, sendo esses dois últimos desprovidos de atividade psicoativa. Biossinteticamente, os canabinóides são originados a partir da condensação de moléculas derivadas do acetato, mediada pela participação de duas rotas distintas, caracterizando-se como metabólitos de origem mista. Todas as estruturas canabinoidicas possuem uma porção monoterpênica (C_{10} - origem mevalônica) ligada ao anel fenólico substituído por uma cadeia alquílica (pentila - C_5) de origem policétida, sendo classificadas como terpenofenóis. A resina desta planta contém vários ácidos canabinóides, ex. os ácidos canabidiólico, tetraidrocannabinólico e canabinólico, juntamente com análogos que apresentam uma cadeia propila no lugar do grupo pentila, ex. tetraidrocannabinavarina (Dewick, 2002). Esses últimos derivam da substituição da hexanoil-coenzima-A pelo butirato equivalente, como unidade iniciadora na formação do policétido precursor, o ácido olivetólico (figura 2).

A concentração de THC na maconha de alta qualidade pode chegar a 0,5-1% nas folhas grandes, 1-3% nas folhas pequenas, 3-7% nos botões florais, 5-10% nas brácteas e mais de 60% na resina, conhecida como haxixe. Esta última é a apresentação mais potente da maconha, sendo produzida a partir da extração do material vegetal em álcool etílico. A quantidade de resina existente na maconha varia muito com o clima e sua produção foi otimizada em regiões tropicais (Dewick, 2002). Além dos canabinóides, também ocorre a presença da hordenina, uma *N,N*-dimetil-*p*-hidróxi-feniletilamina, que possui estrutura química semelhante a da mescalina, mas com ação alucinógena fraca (Breitmaier, 1997).

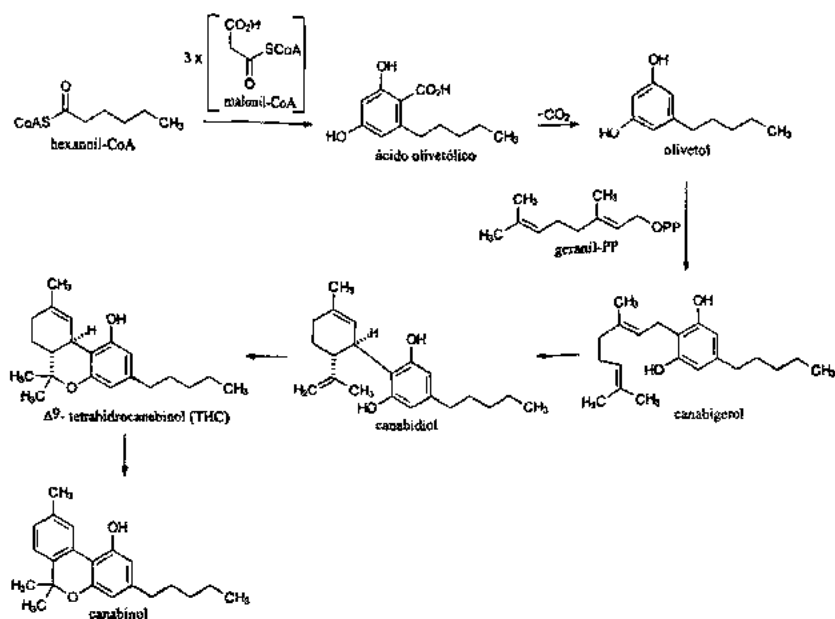


Figura 2. Biossíntese dos metabólitos terpenofenólicos da maconha.

Dados farmacológicos:

Os canabinóides são rapidamente absorvidos por inalação quando fumados, ocorrendo absorção de cerca de 20% do teor de THC (Izzo et al., 2000). Os efeitos fisiológicos e psicológicos são perceptíveis em segundos, estabelecendo-se após poucos minutos, sendo que a concentração máxima no cérebro é atingida em 15 minutos. Os efeitos psicoativos atingem um platô que pode durar de 2 a 4 horas (British Medical Association, 1997). A absorção de THC é variável, quando administrado oralmente, e é dependente do metabolismo de primeira passagem; sua duração de ação é de 0,5 a 2 horas. Depois de inalados ou administrados intravenosamente, os canabinóides são rapidamente distribuídos no organismo, atingindo primeiramente o cérebro, pulmões, fígado, rins e ovários. Por serem lipofílicos e se acumularem no tecido adiposo, podem também acumular-se no leite materno e atravessar a placenta, entrando na circulação fetal. A completa eliminação dos canabinóides no organismo pode levar mais de 30 dias, sendo metabolizados no fígado e lentamente excretados nas fezes e urina. Existem métodos rápidos e acurados, que detectam o THC na urina, até em concentrações nanomolares (Tarter et al., 2001).

A farmacodinâmica dos canabinóides começou a ser melhor compreendida recentemente (Pertwee, 1995), quando foi descoberta a presença de um sistema neuromodulador, constituído por receptores canabinóidicos, distribuídos em diferentes tecidos de mamíferos (Childers e Breivogel, 1998). Foi ainda verificado que o THC liga-se especificamente a esses receptores e mimetiza a ação dos canabinóides endógenos (Mechoulam et al., 1998). Os receptores canabinóidicos CB1 estão localizados no SNC, em áreas responsáveis pelas atividades motoras, postura, memória, cognição, emoção, percepção sensorial, em funções endócrinas e autônomas, e em nervos periféricos, cuja ativação inibe a liberação de neurotransmissores no coração, bexiga e intestino. Já os receptores CB2 encontram-se em macrófagos do baço e, provavelmente, desempenham um importante papel imunológico (Childers e Breivogel, 1998; Izzo et al., 2000). A anandamida foi a primeira substância endógena descoberta, que interage especificamente com estes receptores, apesar de se diferenciar estruturalmente dos produtos naturais canabinóides, por ser uma etanolamida do ácido araquidônico (Emrich et al., 1997). Diversos outros derivados eicosanóides têm sido isolados de diferentes tecidos, destacando-se o araquidonil-2-glicerol, o principal canabinóide endógeno encontrado no cérebro (Childers e Breivogel, 1998; Izzo et al., 2000). Os receptores canabinóidicos interagem com muitos outros sistemas neurotransmissores-neuromoduladores, influenciando os sistemas endógenos de outros tipos de receptores como os opióides e os benzodiazepínicos (British Medical Association, 1997). As psicoses paranóicas, associadas ao uso prolongado da maconha, são comparadas com as patologias de pacientes esquizofrênicos. Inclusive, o uso da maconha parece ser um fator de risco para pessoas propensas a essa doença. A presença significativa destes receptores no sistema límbico sugere que esse último está altamente envolvido nas funções cognitivas e emocionais, que encontram-se perturbadas nos processos de psicoses esquizofrênicas (Emrich et al., 1997; Amato et al., 2002). Por exemplo, a anandamida regula os efeitos da dopamina sobre a atividade motora, via estimulação de receptores do tipo D2, e a perturbação deste sistema poderia explicar estas patologias (Piomelli, 1999).

As ações farmacológicas da maconha no organismo humano estão correlacionadas ao SNC: euforia, disforia, ansiedade, agravamento de estados psicóticos, distorção das noções de tempo e espaço, sedação, fragmentação de pensamentos, confusão mental, perda de memória, alteração das funções motoras, analgesia, efeito antiemético, aumento do apetite; e ao sistema cardiovascular, provocando taquicardia em doses agudas e bradicardia em uso crônico, além de hipotensão devido à vasodilatação periférica (British Medical Association, 1997; Spinella, 2001).

Toxicidade:

Embora a proibição do uso da maconha para fins medicinais e recreativos seja devido ao seu potencial efeito prejudicial para a saúde individual e públi-

ca, é importante ressaltar que não existem registros de casos fatais por sobre-dose. Seu uso casual provoca euforia, sonolência, aumento do estado de consciência e alteração da percepção temporal; seu emprego mais freqüente acarreta problemas de perda da memória, incapacidade de concentração, despersonalização e alteração do humor; já o seu uso abusivo promove alterações da coordenação motora, apatia e hipotensão postural, sendo o pânico e as psicoses paranoicas as reações adversas mais freqüentes (Emrich et al., 1997; Solowij et al., 2002). Seu uso prolongado apresenta efeitos adversos, tais como tremores, convulsões e embriotoxicidade. Nos homens, o uso crônico promove atividade antiandrogênica, decréscimo do número e da motilidade dos espermatozoides, e nas mulheres pode ocorrer supressão da ovulação, efeito na secreção de prolactina e aumento do risco de ocorrer problemas no momento do parto. O sistema canabinoide participa do processo de regulação imunológica, com base no controle dos níveis de citocinas (Klein et al., 2000), cuja supressão faz com que o usuário de maconha apresente comprometimento das funções fagocitárias de seus macrófagos alveolares, aumentando sua susceptibilidade às doenças infecciosas (Baldwin et al., 1997; Straus, 2000).

Emprego terapêutico:

O emprego medicinal da maconha tem uma longa história, sendo utilizada empiricamente, há séculos. O advento de novos medicamentos mais potentes e confiáveis, associado ao estigma que envolve o uso da maconha por sua ação estupefaciente, levou ao seu abandono como tranqüilizante e analgésico moderado. No entanto, suas ações farmacológicas podem ser terapêuticamente úteis, incluindo as atividades antiemética, analgésica, antiespasmódica, estimulante do apetite e indutora do sono; da mesma forma, suas outras propriedades farmacológicas poderiam justificar sua indicação para o tratamento de glaucoma, asma, enxaqueca, epilepsia e outros estados patológicos caracterizados por dores crônicas, onde os opióides são ineficazes (Childers e Breivogel, 1998; Stevenson, 1998). O uso da maconha também tem sido proposto para o tratamento da esclerose múltipla e da anorexia (Stevenson, 1998; Piomelli, 1999). A administração da maconha afeta positivamente os sintomas da síndrome de Gilles de la Tourette (desordem neurológica caracterizada por movimentos involuntários repentinos) e também apresenta efeito neuroprotetivo, em casos de lesões isquêmicas cerebrais (Schneider et al., 2000). Outros estudos indicaram que o canabidiol exerce um efeito supressor sobre a proliferação de células T, B, macrófagos e neutrófilos, e também atenua a liberação de citocinas pró-inflamatórias (Malfait et al., 2000). Estas ações imunossupressivas e antiinflamatórias têm aplicação potencial no tratamento da artrite (Straus, 2000). A atividade antiemética da maconha, aliviando os sintomas de náuseas e vômitos de pacientes em tratamento quimioterápico de tumores malignos e AIDS, que não respondem a outros tratamentos, levou à legalização do uso da maconha, do THC sintético solubilizado em óleo de

gergelim (drabinol) e de alguns derivados sintéticos do THC (nabilona) para uso medicinal no Reino Unido (Stevenson, 1998). A nabilona tem as mesmas propriedades farmacológicas do THC, porém com efeitos mais potentes, com maior propensão a induzir disforia e menor indução de euforia. Os canabinóides sintéticos levonantradol e (-)-HU-210 (figura 3) possuem propriedades farmacológicas análogas às do THC, com maior capacidade analgésica. Apesar dos benefícios terapêuticos da morfina como analgésico também terem sido estabelecidos há séculos e ela ser uma substância amplamente utilizada na medicina, o uso da maconha e do THC permanece em aberto, sendo ainda motivo de debate na sociedade (Childers e Breivogel, 1998). A situação legal e política do uso da maconha e seus derivados tem gerado muita polêmica em diversos países.

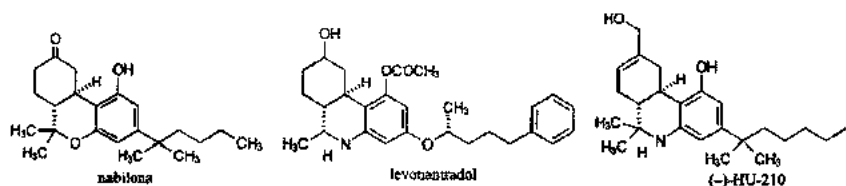


Figura 3. Análogos sintéticos do Δ^9 -tetraidrocannabinol (THC) com potencial emprego terapêutico.

4. DROGAS SEROTONINÉRGICAS

ESPORÃO-DE-CENTEIO

Nome científico: *Claviceps purpurea* (Fries) Tulane

Família: Clavicipitaceae; Classe: Ascomycetes

Nomes comuns: ergô (português), cornezuelo del centeno (espanhol), ergot (espanhol, francês, inglês)

Parte utilizada: esclerócio recolhido sobre a espiga de centeio

O esporão-de-centeio já foi abordado no capítulo 31 e está incluído no contexto etnofarmacológico das drogas alucinógenas em função da presença dos alcalóides psicoativos derivados do ácido lisérgico. O LSD (dietilamida do ácido lisérgico) desempenhou um papel relevante como substância modelo de agentes psicoativos, em estudos farmacológicos e toxicológicos, que empregaram este derivado sintético no lugar das ergolinas naturais.

O *ergot* (palavra francesa que designa a saliência óssea da pata do galo e, por analogia, se utiliza para o esporão) é o nome do esclerócio (estado latente) dos fungos parasitas do grupo dos ascomicetos do gênero *Claviceps*, que se desenvolve nas espigas de centeio, principalmente durante as estações úmidas. De todas as espécies de parasitas dos cereais, que são mais de cinquenta, o esporão-de-centeio é a mais importante e muito comum na Europa. Esta esclerotização,

de coloração púrpura, marrom-escuro ou negra, em forma de bastão curvo e de 1 a 8 cm de comprimento, se desenvolve no lugar da semente como parasita das espigas do centeio (*Secale cereale* L., Poaceae). O ergô e seus efeitos nocivos já eram conhecidos pelas culturas mesopotâmicas da Assíria e da Babilônia. Seu registro mais antigo foi encontrado nas antigas tábuas assírias, com escritura cuneiforme, que datam de 600 anos a.C., onde o ergô foi descrito como “uma pústula nociva no ouvido do grão”. Depois foi demonstrado que ele teve importância ritual na Grécia Clássica. No entanto, os sintomas do envenenamento por toxinas deste fungo, conhecido como ergotismo, foram associados com o consumo de cereais contaminados com este parasita, somente em 1676 d.C. Com a frase *Ignis sacer* (fogo sacro), os romanos referiam-se à sensação de calor interno, que provoca nas extremidades, o efeito vasoconstritor das substâncias tóxicas desta droga e que terminam com o desenvolvimento de gangrena. Este nome se popularizou durante a Idade Média, quando por acidente, se moía o ergô junto com o centeio para elaborar farinha, provocando envenenamentos em grande escala, conhecidos como “fogo-de-santo-antônio”. A peregrinação à capela dedicada a este santo, no sul da França (1039 d.C.) tornou-se um ato de devoção, por parte daquelas pessoas que sofriam de ergotismo, mas é possível que o incremento na circulação sanguínea, devido à caminhada, assim como a mudança da dieta, tenham sido os responsáveis pela melhoria dos intoxicados. Na realidade, o ergô nunca foi utilizado como alucinógeno intencional no período medieval, mas foi muito empregado por parteiras, por induzir contrações da musculatura lisa uterina e atuar como forte vasoconstritor.

O gênero *Paspalum*, da família das gramíneas, amplamente cultivado em países produtores de grãos, devido à sua excelente aptidão forrageira, provoca, durante outonos úmidos, envenenamento do gado bovino e ovino através das toxinas termogênicas, presentes nos esclerócios do fungo parasita, que ao serem ingeridos com a forragem, produzem quadros nervosos caracterizados por tremores e falta de coordenação. Na época moderna, ocorreu o ressurgimento desta epidemia na Ucrânia e na Irlanda, em 1929; na Bélgica, em 1953; e na Índia, o ergô-do-sorgo (*Claviceps sorghi*) provocou uma epidemia em 1915. Na África, a infestação foi reconhecida, primeiramente, no Quênia, em 1924, e depois se estendeu ao continente, quando foi identificada uma outra espécie do patógeno, chamada de *Claviceps africana*, que ataca principalmente os cultivos preparados com sementes híbridas de sorgo. No Brasil, isto apareceu em 1995 e se estendeu à América Central e aos Estados Unidos, nos dois anos subsequentes (Bandyopadhyay et al., 1998).

Dados farmacológicos:

As atividades farmacológicas dos principais alcalóides do ergô, as ergolinas, são devidas à sua capacidade em interagir com os receptores α -adrenérgicos, dopaminérgicos e serotoninérgicos. Para saber mais sobre a farmacologia e toxicologia das ergolinas, ver o capítulo “Alcaloides indólicos”.

PSILOCYBES

Nome: *Psilocybe* spp.

Família: Agaricaceae

Nomes comuns: hongo milagroso, hongo de San Isidro (espanhol)

Partes empregadas: partes aéreas

Há 3.000 anos, a cultura Maia, que se estendeu da Guatemala ao sul do México, desenvolveu um complexo uso religioso de cogumelos alucinógenos como agentes enteógenos [termo sugerido por Wasson (1980) para nominar, de forma não pejorativa, certas substâncias cuja ingestão provoca alteração da consciência, conduzindo a estados de êxtase ou possessão (MacRae, 1998)], de maneira a vivenciar experiências divinas ao ingeri-los. Assim, o cogumelo sagrado mexicano, *Psilocybe aztecorum*, passou a ser essencial para os rituais religiosos xamanistas e as cerimônias propiciatórias de cura de todos os povos mesoamericanos. Os cogumelos do gênero *Psilocybe* são cosmopolitas, existindo mais de 80 espécies psicoativas, tendo sido mais de 30 delas identificadas no México, como *Psilocybe caerulescans* e *Psilocybe mexicana*. No entanto, outros 50 representantes deste gênero são desprovidos de propriedades alucinógenas. Fungos de outros gêneros compartilham com o gênero *Psilocybe* a presença de derivados triptamínicos, responsáveis por neurotoxicidade, tais como *Conocybe siligineoides*, *Panaeolus shincrinus* e *Stropharia cubensis*, e também são chamados de “cogumelos mágicos”.

São poucas as plantas que têm sido tão veneradas como os cogumelos sagrados, que foram chamados pelos astecas de *teonanacatl*, que significa “carne dos deuses ou cogumelos divinos” (*teotl* = Deus, divino ou maravilhoso; *nacatl* = carne; *nanacatl* = cogumelo). As primeiras crônicas do período colonial descrevem que os cogumelos eram destinados a produzir transe extáticos e adivinhatórios do futuro, e que os conquistadores estavam decididos a eliminar todos os vestígios destas práticas idolátricas, já que se aborreciam, em particular com a contumaz persistência dos rituais, onde estes cogumelos eram venerados devido à semelhança com o sacramento cristão da Eucaristia, uma coincidência atribuída às forças demoníacas. Um século após a Conquista, os cogumelos mágicos não somente continuavam sendo utilizados secretamente, mas também haviam sido incorporados ao culto dos santos do catolicismo. No México atual, seu uso nos rituais curativos dos indígenas mazatecos, chinantecos, chatines, mixes, zapotecos e mixtecos das serras do Estado de Oaxaca, e entre os nahuas de Puebla está sendo preservado (Schultes et al., 2000). Os mazatecos chamam-no de *ntsi-si-tho*, cujo prefixo “ntsi” é um diminutivo que exprime respeito e carinho, e o resto da palavra significa “aquele que brota”. O melhor exemplo do sincretismo dos rituais indígenas pré-hispânicos e a tradição cristã está representado na imagem de devoção do *Santo Niño de Atocha* (Santo Menino de Atocha), que é considerado a personificação dos cogumelos sagrados: o Deus Menino dos Nahuas

(*Piltzintli*), espírito dos enteógenos (Wasson, 1980). Nas gravações feitas, em 1955, por R. Gordon Wasson, o primeiro não indígena testemunha de um velado cerimonial com a maga mazateca María Sabina, ficou registrado, nas próprias palavras da xamanista, o poder curativo dos *niños santos* (*Psilocybe mexicana*): ...*baixam a febre, desconstipam, aliviam os resfriados e as dores de dentes, expulsam os maus espíritos do corpo ou liberam o espírito do doente* (Wasson, 1974).

A preferência pessoal do xamã, os objetivos e a disponibilidade temporal do material determinam as espécies de cogumelos a serem empregadas nos rituais mágicos. Comumente, são ingeridos de 2 a 30 cogumelos em uma cerimônia, bem picados, frescos, ou bebidos na forma de infusões. Os cogumelos causam alucinações visuais e auditivas num estado de sonho, que se confunde com a realidade. É provável que, no final da Idade Média, *Psilocybe semilanceata* tenha sido empregado como alucinógeno na Espanha, sendo associado a casos de feitiçaria. Presumivelmente, também os nômades dos Alpes faziam uso das propriedades psicoativas desse cogumelo. Recentemente, foi descoberto, na Costa do Marfim, um culto rudimentar a um *tamu*, cogumelo do conhecimento, que foi identificado como sendo uma espécie do gênero *Conocybe*. Acredita-se que algumas espécies de *Psilocybe* também sejam utilizadas pelos índios yurimagas da Amazônia peruana para provocar estados de embriaguez alucinógena (Schultes et al., 2000).

Dados químicos:

O gênero *Psilocybe* contém cerca de 0,2 a 0,6% de compostos alcalóidicos triptamínicos psicoativos psilocina e psilocibina, que são estruturalmente relacionados com o neurotransmissor serotonina, e se originam biossinteticamente a partir da triptamina, onde a fosforilação do grupo hidroxila da psilocina resulta no íon anfótero psilocibina (figura 4) (Dewick, 2002).

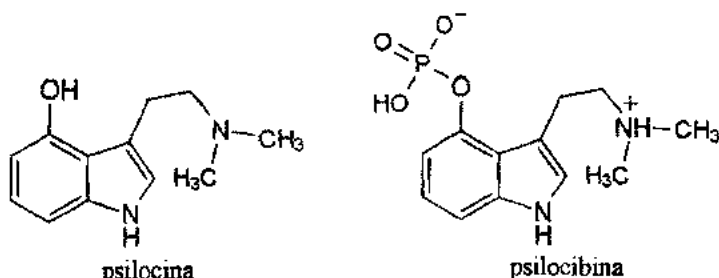


Figura 4. Estruturas dos alcalóides triptamínicos psicoativos psilocina e psilocibina.

Dados farmacológicos:

A psilocibina é o principal componente psicoativo do gênero *Psilocybe*, e na dose de 6 a 20 mg produz alucinações, que causam, rapidamente, modificações de formas e cores, bem como alterações na percepção de tempo e espaço e na própria identidade física e psicológica. Em 1957, o químico suíço Albert Hofmann, responsável pelo isolamento e identificação dos componentes ativos psilocibina e psilocina, ingeriu 2,4 g de cogumelos secos (*Psilocybe mexicana*) e vivenciou uma incrível experiência alucinógena, assim relatada: ... o mundo exterior começou a sofrer uma estranha transformação, todas as coisas adquiriram motivos e cores mexicanas..., e teve a visão de que o médico que o acompanhava se transformou num sacerdote asteca (Furst, 1995). O poder alucinógeno dos cogumelos se assemelha aos da ayahuasca (ver item 4.5) e os astecas utilizavam a "magia" destes cogumelos no tratamento da gota e da febre (Rätsch, 1997). Embora os efeitos alucinógenos subjetivos provocados pela psilocibina e pelo LSD sejam considerados similares, eles diferem quanto às propriedades farmacológicas serotoninérgicas, já que o LSD se liga a vários sítios receptores 5-HT, com muito maior afinidade que a psilocibina. Além disso, a psilocibina atua como agonista efetivo junto aos receptores 5-HT₂, ao passo que o LSD se liga parcialmente a esse sítio. Estas diferenças parecem explicar o mecanismo pelo qual o LSD antagoniza os efeitos subjetivos do álcool, quando administrados conjuntamente, enquanto que a psilocibina apresenta um efeito parcial (Barrett et al., 2000). Estudos farmacocinéticos realizados com a psilocibina, em humanos, mostraram sua rápida desfosforilação em psilocina que, por sua vez, é eliminada na urina conjugada com ácido glicurônico, podendo ser detectada na concentração de até 10 ng/ml (Grieshaber et al., 2001).

Toxicidade:

A psilocina e psilocibina são substâncias controladas e classificadas como fármacos alucinógenos, com grande potencial de abuso, na mesma categoria que o LSD, o THC e a mescalina. Os efeitos tóxicos mais frequentes estão relacionados à coleta e à identificação equivocadas de cogumelos, que geralmente resultam em problemas gastrointestinais (Dewick, 2002). O uso de psilocibina está associado às síndromes psicóticas em humanos, que assemelham-se a episódios de esquizofrenia, possivelmente, pela ativação dos receptores serotoninérgicos (Vollenweider et al., 1998).

PEIOTE

Nome científico: *Lophophora williamsii* (Salm-Dyck) J.M. Coulter

Família botânica: Cactaceae

Nomes comuns: peiote (português); peyote, mescal (espanhol; inglês)

Parte utilizada: toda a planta

O peiote é um cactus pequeno, nativo do deserto de Chihuahua no Méxi-

co, com área de distribuição que abrange as regiões semidesérticas do centro-norte mexicano e o sul dos Estados Unidos. O talo é globuloso, com cerca de 9 cm de diâmetro e 3 cm de altura acima do solo, que nas épocas de seca se afunda e permanece quase enterrado por causa da desidratação. Possui uma capa cerosa, que protege a epiderme, conferindo-lhe uma coloração verde-azulada ou acinzentada. A zona superior, chamada de coroa, está dividida radialmente por 5 a 13 costelas e por auréolas, que são gemas produtoras de flores, providas de mechas de pelos sedosos e esbranquiçados. Suas raízes são napiformes e podem atingir uma profundidade de até 15 cm (Bravo Hollis e Scheinvar, 1999). Esta espécie suculenta foi, originalmente, classificada como *Anhalonium williamsii* (Lem.) Lem. até sua redistribuição para o gênero *Lophophora*. Outra espécie relacionada é *Lophophora diffusa* (Croizat) Bravo. Esses cactus têm sido utilizados, desde tempos remotos, para fins medicinais e em rituais religiosos indígenas, e seu nome popular, *peyote*, tem origem asteca derivado do náuatle *peyotl*, que significa “planta divina”. O cactus é preparado cortando seu corpo vegetal em fatias, que são dessecadas para sua conservação. A cabeça seca, na forma de um disco (20 a 50 mm de diâmetro), é chamada de botão-de-mescal ou peiote (Schultes et al., 2000) pelos indígenas que costumam comê-la crua ou assada, ingerindo ao mesmo tempo álcool, sendo o efeito desta mistura *uma embriaguez com ressaibo de loucura*, durante o qual se produzem intensas alucinações visuais (Martínez, 1989). Também, são preparadas infusões, que quando ingeridas em pequenas doses, provocam uma ação tônica de insensibilidade à fadiga, ao sono e à fome (Spinella, 2001).

Na medicina tradicional mexicana, o peiote é considerado como um tônico cardíaco (Martínez, 1989). O seu emprego ritual era muito difundido entre as culturas mesoamericanas dos vales centrais lacustres do México, no momento da chegada dos conquistadores europeus. Aparentemente, os astecas conheceram esta droga unicamente na forma de botão, e teria sido recebida como um tributo das províncias do norte, ou comercializada, na forma seca, pelos povos chichimecas destas regiões (Bye e Linares, 2000). Os primeiros relatos da época colonial mexicana (ex. *Códice Florentino* ou *Historia General de las Cosas de Nueva España*, escrita numa versão bilingüe náuatle-castelhano, entre 1547 e 1577, pelo frade Bernardino de Sahagún, o pai da etnografia moderna, considerado o maior legado enciclopédico sobre os costumes pré-hispânicos da Mesoamérica) indicam que os chichimecas e os toltecas conheciam as propriedades alucinógenas desta planta, já em torno de 300 a.C. (Sahagún, 2000). No entanto, evidências arqueológicas, obtidas pelo método do carbono radioativo, permitem datar os restos mais antigos de peiote, escavados nas zonas arqueológicas das chamadas Culturas do Deserto, no sul do Texas, EUA, há 5.000 a.C. (Furst, 1990). O ritual do uso do peiote foi condenado pelos conquistadores espanhóis por estar relacionado às tradições idólatras dos povos indígenas que a igreja católica considerava “satânicas” e, mais recentemente, tem sido atacado,

em várias ocasiões, por grupos religiosos fanáticos e pelos governos estatais dos EUA, de tendência conservadora. Contudo, o peiote ocupa um lugar sagrado em muitas comunidades indígenas mexicanas, cujo uso ritual tem se estendido aos índios norte-americanos, nos últimos 100 anos. Um destes rituais que sobrevivem até os dias atuais é o da "caça ao peiote", realizado pelos huicholes, que peregrinam anualmente à Terra Santa, lugar onde cresce o peiote (*Hikuri*), no deserto das regiões do centro-norte do México, para a coleta dos cactus alucinógenos. A viagem é guiada por um xamã experiente (*Mara'akame*), que está em contato com o "Nosso Avó Fogo" (*Tatewari*), o deus peiote. Os participantes, geralmente entre dez e quinze, adotam a identidade de um antepassado deificado enquanto seguem à *Tatewari* para "encontrarem sua vida" (Schultes et al., 2000). No deserto, comungam com a planta sagrada, que é coletada e levada para seus lares (Benítez, 1988). Com o intuito de proteger o direito à livre atividade religiosa, o culto legalizado do peiote foi permitido à Igreja Nativa Americana, que conta com cerca de 250 mil membros (Anderson, 1996; Gottlieb, 1997). A demanda do peiote é maior do que a sua oferta, o que vem causando sua extinção em áreas de ocorrência natural, bem como a elevação do preço, por exemplo, mil botões frescos custam 150 dólares e secos 170 dólares (Anonymous, 1999).

Dados químicos:

Os primeiros estudos químicos do peiote foram realizados por Lewin, que isolou, em 1888, um alcalóide tetraisoquinolínico, a analonina. Esse composto não apresentou as propriedades alucinógenas esperadas e a busca do principal composto psicoativo levou Heffter, em 1897, a identificar um derivado β -fenetilamínico, de estrutura similar aos neurotransmissores catecolamínicos e anfetamínicos, que chamou de mescalina (3,4,5-trimetóxi-fenetilamina). Em 1919, Späth determinou a estrutura correta da mescalina e propôs sua síntese; e até 1973 já haviam sido identificados 56 alcalóides no peiote. Esta riqueza em alcalóides se deve, possivelmente, ao fato do peiote ser uma espécie intensamente estudada em decorrência da sua importância etnofarmacológica (Mata e MacLaughlin, 1982). A figura 5 mostra, além do alcalóide principal do peiote (mescalina), outros alcalóides encontrados em menor quantidade e que pertencem aos grupos das β -feniletilaminas mono- (hordenina) e dioxigenadas (*N*-metil-3,4-dimetóxi-fenetilamina); ao grupo das tetraidroisoquinolinas (peiotina) e suas amidas (*N*-acetilanalamina); ao grupo das fenetilaminas conjugadas com ácidos do ciclo de Krebs (succinimida da mescalina); e aos derivados do pirrol (peionina). A espécie congênere, *Lophophora diffusa* (Croizat) Bravo, distingue-se de *Lophophora williamsii* (Salm-Dyck) J.M. Coult. devido à ausência de mescalina e à presença predominante do alcalóide peiotina. As diferenças quali- e quantitativas no conteúdo de feniletilaminas, em várias espécies de cactus alucinógenos, já foram detectadas por HPLC (Brenneisen et al., 1992).

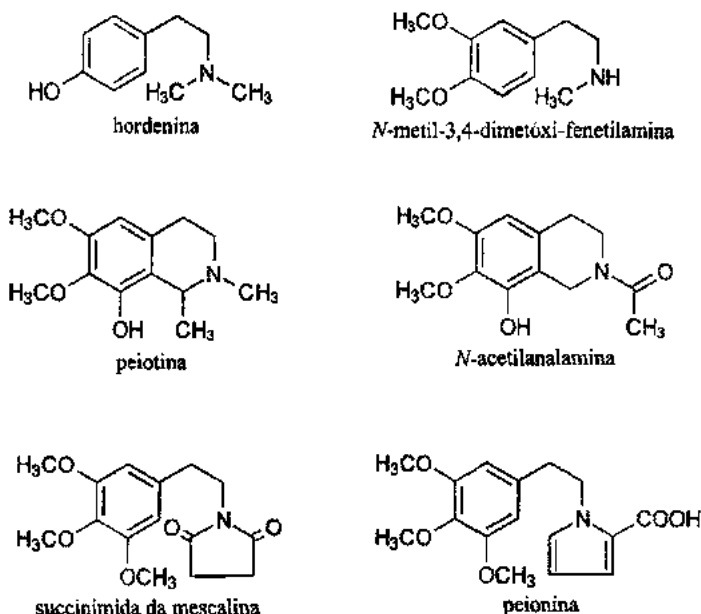


Figura 5. Estruturas de alguns alcalóides do peyote.

Dados farmacológicos:

A mescalina produz uma série cronológica de eventos predizíveis, ocorrendo primeiramente modificações físicas, seguidas por eventos sensoriais. Depois de 30 minutos da ingestão de mescalina, surgem náuseas frequentemente acompanhadas de vômitos e, ocasionalmente, surge diarreia. Estes sintomas diminuem e desaparecem quando começa a fase sensorial, que é percebida após uma hora, cuja intensidade aumenta até atingir um platô em torno de 2 a 3 horas. Neste ponto, o pulso e a pressão sanguínea caem em relação aos seus níveis iniciais, e também ocorre midríase. O efeito da intoxicação diminui em poucas horas e a recuperação completa pode durar cerca de 12 horas. As sensações experimentadas são perfeitamente lembradas e incluem agudez e intensificação do campo visual, com exaltação da percepção de cores e texturas, bem como criação de padrões de imagens e formas surrealistas. Também surge empatia por seres vivos e coisas inanimadas, principalmente, por coisas pequenas (Shulgin, 1973). A dose de mescalina requerida para provocar alucinações varia individualmente. Em média, cada quilo de botão seco apresenta de 4,6 a 6,8 g de mescalina, sendo necessário ingerir de 3 a 12 botões para atingir os efeitos desejáveis (Anderson, 1996), pois somente 1% da mescalina está disponível nestes botões, quando mascarados e ingeridos.

Depois da ingestão oral da mescalina, a concentração máxima no plasma é atingida em 90 a 120 minutos. Sua vida média é de 6 horas e seus efeitos psicoativos podem durar até 10 horas. A mescalina não é metabolizada, sendo excretada intacta na urina (Julien, 1998).

Quanto ao mecanismo de ação, a mescalina parece alterar o metabolismo da acetilcolina no cérebro e também atua como agonista serotoninérgico, em especial junto ao receptor 5-HT₂, ao qual se liga com alta afinidade nanomolar (302 nM). A mescalina compartilha o mesmo mecanismo de ação dos alucinógenos indolâmnicos, tais como o LSD, o DMT (*N,N*-dimetiltriptamina) e a psilocibina, bem como os derivados β -fenetilamínicos: DOM (dimetóxi-metilanfetamina), MDA (metilenodióxi-anfetamina) e MDMA (3,4-metilenodióxi-*N*-metilanfetamina = Ecstasy), que também atuam nos receptores serotoninérgicos. Pode ocorrer tolerância cruzada entre mescalina, LSD e psilocibina, evidenciando seu mecanismo de ação comum. Os seres humanos desenvolvem tolerância psíquica e física frente à mescalina, sendo que essa tolerância desaparece rapidamente quando seu uso é descontinuado (Anderson, 1996; Rabin et al., 1999). No entanto, seu emprego crônico não altera o grau de afinidade da ligação com os receptores 5-HT₂, como acontece com o LSD (Buckholtz et al., 1990).

Toxicidade:

Não existem evidências claras de genotoxicidade provocada pela mescalina, não tendo sido detectados danos cromossômicos nos linfócitos dos índios mexicanos huicholes, que têm uma tradição cultural de emprego do peiote, que data de 1.600 anos (Dorrance et al. 1975). Porém, a mescalina é teratogênica e apresenta efeitos adversos, quando administrada em cobaias, tal como retardo na ossificação craneal (Hirsch e Fritz, 1981).

A dose letal (DL₅₀) de mescalina em humanos pode ser extrapolada de experimentos animais, que varia enormemente: ratos (132 mg/kg, intraperitoneal), cães (54 mg/kg, intravenosa), e macacos (130 mg/kg, intravenosa) (Hardman et al. 1973). Além da mescalina, a toxicidade do peiote também é atribuída aos outros alcalóides presentes na planta. A lofoforina é considerada um dos componentes mais tóxicos do peiote, cuja dose de 20 mg, via oral, causa dor de cabeça e leve hipotensão, com diminuição do pulso, em humanos (Shulgin, 1973); em coelhos, a dose de 12 mg/kg causa convulsões tetânicas violentas. A hordenina possui efeito similar ao da efedrina sobre a musculatura cardíaca, causando hipertensão e aceleração do pulso; doses maiores resultam em morte por parada respiratória. A peiotina produz convulsões tetânicas, em sapos, na dose de 8 a 10 mg (Anderson, 1996).

Emprego terapêutico:

A tradição de uso medicinal do peiote é tão importante quanto sua ação alucinógena, existindo relatos de uma ampla gama de indicações para tratar várias enfermidades como a tuberculose, pneumonia, dor de cabeça, câncer e

doenças venéreas, embora não existam estudos científicos que os corroborem (Anderson, 1996). A efetividade terapêutica dos agonistas serotoninérgicos junto aos receptores 5-HT no tratamento agudo da enxaqueca, ansiedade e depressão indica o potencial medicinal da mescalina para estes fins.

Outros cactus:

A família das cactáceas conta com mais de 1.500 espécies, sendo que a metade é nativa das zonas semidesérticas do México. Nem todos os cactus possuem alcalóides e são alucinógenos, como por exemplo os *nopales* (*Opuntia* spp.), que fazem parte da dieta alimentícia mexicana. A seguir, estão listados alguns importantes cactus psicoativos.

– *Trichocereus pachanoi* Britton et Rose

A mescalina é também o principal alcalóide deste cactus originário dos Andes do Peru e Equador, conhecido como “San Pedro”, e que constitui um dos ingredientes da “cimora”, uma bebida alucinógena (Bruhn e Bruhn, 1973). Seu teor em mescalina é menor do que o do peiote (0,3 a 1,2%), mas por causa do seu rápido crescimento e grande tamanho, constitui uma fonte mais rentável deste alcalóide. A ingestão deste cactus é considerada mais agradável do que a do peiote, já que é menos amargo, geralmente não produz náuseas, e as experiências alucinógenas foram relatadas como sendo mais tranquilas (Gottlieb, 1997).

– *Ariocarpus* spp.

Os cactus do gênero *Ariocarpus* são descritos como medicinais e venenosos. A espécie *Ariocarpus fissuratus* (Engelm.) K. Schum. é utilizada pelos índios mexicanos tarahumaras como narcótica e planta mágica e é considerada mais potente do que o peiote. Já os índios huicholes empregam medicinalmente a espécie *Ariocarpus retusus* Scheidw. para o tratamento da febre (Bruhn e Bruhn, 1973) e também o utilizam como “falso-peyote”, descrevendo efeitos psicológicos perigosos e indesejáveis (Furst, 1971). As seis espécies que compõem este gênero contêm uma gama variada de alcalóides β -fenetilamínicos, com a presença comum de hordenina (Mata e MacLaughlin, 1982).

– *Mammillaria heyderi* Muehlenpf.

Este cactus é também empregado pelos índios tarahumaras em rituais religiosos por seus poderes mágicos, bem como para curar ou aliviar dores de cabeça. Esta espécie é conhecida como *chilito* e os tarahumaras também a chamam de *wichu-ri-ki*, que significa loucura, demência, insanidade. A fração de alcalóides totais desta planta é composta majoritariamente pelo alcalóide *N*-metil-3,4-dimetóxi-fenetilamina (Bruhn e Bruhn, 1973).

– *Pelecyphora aselliformis* Ehrenb.

Existem relatos do uso medicinal deste cactus no tratamento de dores reumáticas e febre. Ele é conhecido no México pelos nomes de *peyote*, *peyotillo* e *peotillo*, talvez pela similaridade dos efeitos fisiológicos com *Lo-phophora williamsii* (Salm-Dick) J.M. Coult. (peiote verdadeiro) ou pelo teor

de alcalóides, já que também foi relatada a presença de mescalina, mesmo em baixas concentrações, e de alcalóides tetraidroisoquinolínicos (Neal et al., 1972). A presença de hordenina poderia explicar a atividade antisséptica relatada para um extrato preparado à base desse cactus (Rao, 1970).

CAMPAINHA

Nome científico: *Ipomoea tricolor* Cav.

Família botânica: Convolvulaceae

Nomes comuns: campainha, corda-de-viola (português); maravillas, manto de la virgen, manto del cielo (espanhol); morning-glory (inglês)

Parte utilizada: sementes

O nome desta família deriva do latim *convolvere*, que significa entrelaçar-se, e refere-se, em termos gerais, à forma do seu crescimento, já que um grande número destas plantas são trepadeiras volúveis, que crescem enroscadas em um suporte. Uma das características mais marcantes das convolvuláceas é a presença de fileiras de células secretoras de resinas glicosídicas em tecidos foliares e, especialmente, em suas raízes. Estas resinas constituem uma das características quimiotaxonômicas desta família, e o emprego na medicina tradicional de alguns gêneros, ex. *Convolvulus*, *Exogonium*, *Ipomoea*, *Merremia* e *Operculina*, está associado às propriedades purgantes de suas resinas (Pereda-Miranda, 1995). Os tubérculos das espécies mexicanas do gênero *Ipomoea*, com propriedades laxantes, foram introduzidos na Europa, a partir de 1565 e, desde então, constituem uma das matérias-primas de maior comércio entre o Novo e Velho Mundo, ex. *Ipomoea purga* (Wender.) Hayne, a raiz-de-jalapa (Pereda-Miranda e Hernández-Carlos, 2002).

Contudo, as propriedades analgésicas e alucinógenas das plantas desta família a colocam em uma posição destacada na florística mexicana, pois são empregadas medicinalmente e em rituais religiosos adivinhatórios dos povos mesoamericanos. Em especial, as sementes de duas espécies de campainha, uma de flores brancas, *Turbina corymbosa* (L.) Raf. (sin. *Rivea corymbosa* (L.) Hallier f.) e outra de flores azuis ou púrpuras, *Ipomoea tricolor* Cav. (sin. *Ipomoea violacea* L.), conhecidas entre os astecas como *ololiuhqui*, voz náuatle que significa literalmente "esférico", e que também designa as sementes de várias plantas psicotrópicas mexicanas, conhecidas na atualidade como manto-da-írgem. Existem evidências de que o poderoso narcótico dos antigos astecas, o *tliltlitzin* (*tlilli* = negro; *tzin* = respeito), era constituído por sementes de *Ipomoea tricolor* Cav., que atualmente são utilizadas pelos índios zapotecas e chatines do Estado de Oaxaca, do México e conhecidas pelo nome de *badon negro*, ou na língua zapoteca como *bandungás* (Furst, 1990). No Código Florentino (Livro XI:7:1), não somente são descritas as propriedades alucinógenas do *ololiuhqui*, mas também são feitas referências às suas propriedades medicinais (Sahagún, 2000): ...esta semente embriaga e enlouque-

ce. Dão-na como inebriante para causar danos àqueles que queremos mal, e os que as comem parecem-lhes que vêem visões e coisas espantosas... Esta erva é medicinal, e suas sementes, moendo-as e colocando-as no lugar onde está a goia... Esta descrição inclui uma breve sugestão do uso terapêutico como analgésico, de aplicação tópica, na forma de cataplasma. O conhecimento da atividade narcótica das sementes desta espécie de campainha já era um fato bem documentado pelos primeiros cronistas do período da conquista, incluindo o “Protomédico Geral das Índias, Ilhas e Terra Firme além do Mar Oceano” da corte de Felipe II, o Dr. Francisco Hernández, que foi enviado com o encargo real de identificar todas as árvores e plantas medicinais da Nova Espanha. Ele, então, na sua *História Natural* de 1651 (Hernández, 1959), comparou os efeitos alucinógenos desta planta com aqueles descritos por Dioscórides para *Solanum maniacum*: ... o *ololiuhqui*, que outros chamam de *coaxihuitl*, ou seja, erva-da-serpente, é uma planta volúvel que dá uma raiz semelhante a talos cilíndricos fibrosos... com folhas verdes... de figura de coração, flores brancas e alargadas, e semente redonda... os sacerdotes indígenas quando queriam simular que conversavam com os deuses e recebiam respostas deles, comiam suas sementes para delirar e ver mil fantasias e figuras de demônios... Schultes, já em 1941, fez comentários sobre esta observação e destacou as semelhanças entre os efeitos fisiológicos desta planta sagrada dos astecas e os provocados pelas espécies de *Cannabis*, *Papaver* e outras plantas narcóticas do Velho Mundo (Schultes et al., 2000). O botânico mexicano Manuel Urbina, em seu empenho por determinar as plantas de Hernández, comenta que através da descrição feita por este último, deduziu tratar-se de uma convolvulácea, possivelmente do gênero *Ipomoea*. Ele também assinala que, sendo uma espécie deste gênero, é muito provável que goze das propriedades purgantes que possui a raiz de jalapa (Urbina, 1903). Sahagún (2000) descreve estas propriedades laxantes para as raízes do *ololiuhqui* dizendo (CF: Livro XI:5:110): ...moída é boa para a dor de barriga e regurgimento das tripas... é feita de beber revolta com água em jejum. E com isto purga...

Investigações recentes permitiram a caracterização das complexas estruturas dos constituintes individuais, de natureza lipo-oligossacarídica, presentes nas resinas purgantes das convolvuláceas mexicanas (Bah e Pereda-Miranda, 1997; Pereda-Miranda e Hernández-Carlos, 2002).

O emprego ritual destas plantas sagradas dos astecas foi amplamente difundido entre o mundo pré-hispânico, e prova disto são as representações estilizadas de campainhas em murais descobertos na zona arqueológica de Tepantitla, pertencente ao complexo cerimonial e urbano de Teotihuacan, cidade que floresceu entre os anos 100 a 750 d.C. Estas pinturas, que datam de 500 d.C., representam a deusa-mãe Xochiquétzal, deusa das águas terrestres, e suas sacerdotisas acompanhantes junto a uma trepadeira em flor. Segundo Furst (1974), trata-se da mesma campainha alucinógena dos astecas, *Turbina corymbosa* (L.) Raf., famosa entre

os sacerdotes cristãos, na época, por considerá-la diabólica e provocadora de idolatrias. Entretanto, a figura parece representar uma das variedades arbóreas que são conhecidas, na atualidade, como *casahuate*, ex. *Ipomoea murucoides* Roem. et Schult., *Ipomoea intrapilosa* Rose, entre outras. Essas espécies apresentam duas características particulares, que permitem sua vinculação com a representação teotihuacana: a primeira é uma árvore considerada mágica até nossos dias, em todo o altiplano mexicano, pelo fato de que floresce com vistosas flores brancas campaniformes, precisamente nas épocas de secas, anunciando, segundo crenças populares, a chegada das chuvas. A segunda está vinculada às propriedades alucinógenas de suas flores, que são utilizadas na medicina popular, na forma de cataplasmas, para aliviar padecimentos "da água e do frio", de maneira semelhante como são empregados os *toloches* (*Datura*) e, portanto, conduzem à etnobotânica pré-hispânica do *ololiuhqui*. Na realidade, o ritual entre os xamãs zapotecos, realizado com as sementes da campainha, incorpora muitos elementos cristãos. Alguns dos nomes com os quais se chama esta planta, "sementes-da-írmã e erva-maria", mostram o sincretismo das tradições pagãs pré-hispânicas com as católicas, e indicam claramente que *Turbina corymbosa* (L.) Raf. e as espécies de *Ipomoea* são consideradas, ainda, como um presente dos deuses (Schultes et al., 2000). Um dado adicional das contribuições do México pré-hispânico ao Velho Mundo, que não deve passar despercebido, é o uso culinário da batata-doce (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.).

Dados químicos:

A extensa investigação etnofarmacológica desta família, iniciada por Schultes, na década de 40, junto às comunidades indígenas do México, culminou com os trabalhos fitoquímicos realizados pelo renomado químico suíço Albert Hofmann, que identificou os alcalóides derivados do ácido lisérgico como as substâncias psicoativas das sementes das campainhas, incluindo a amina do ácido *d*-lisérgico (ergina), o lisergol e a α -hidróxi-etilamida do ácido lisérgico, bem como a presença de alcalóides desprovidos de atividade psicoativa, ex. a amida do ácido *d*-isolisérgico e algumas clavininas, ex. chanoclavina e elimoclavina (figura 6). Este descobrimento, como relatou Hofmann: ... *fechou um ciclo mágico de investigações*, iniciado nos anos quarenta com o descobrimento do LSD e finalizado com a identificação dos agentes psicoativos de uma das drogas alucinógenas mais interessantes dos nativos americanos (Hofmann, 1967). O conteúdo de alcalóides nas sementes e partes aéreas é baixo (0,05 a 1,3%) nesta família (Amor-Prats e Harborne, 1993). Devido ao fato de que numerosas espécies de campainhas são ornamentais, ex. *Ipomoea alba* L., *Ipomoea cairica* (L.) Sweet e *Ipomoea purpurea* (L.) Roth (Lorenzi, 2000), os casos de intoxicação são comuns entre pessoas que ingerem deliberadamente as sementes pulverizadas destas plantas alucinógenas ou suas infusões (Emboden, 1972). Para saber mais sobre a farmacologia e toxicologia dos alcalóides das espécies sagradas do gênero *Ipomoea*, ver a discussão para as ergolinas do esporão-de-centeio no capítulo "Alcaloides indólicos".

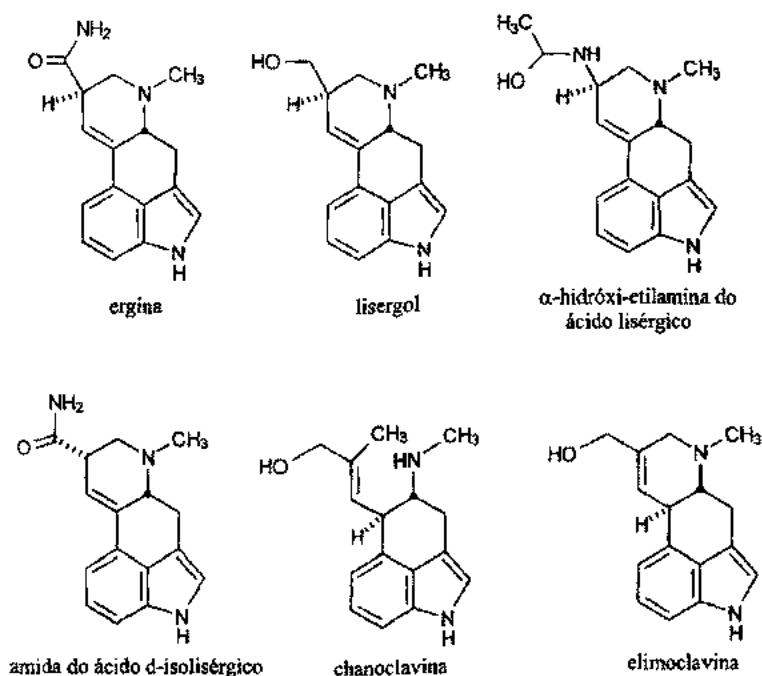


Figura 6. Estruturas de alguns alcalóides isolados de *Ipomoea* spp., Convolvulaceae.

AYAHUASCA

As espécies de *Banisteriopsis* são lianas gigantes que constituem a base de uma importante bebida alucinógena, *ayahuasca*, consumida na parte ocidental do vale da Amazônia brasileira e por tribos dos Andes colombianos, equatorianos e peruanos na vertente do Pacífico. A bebida *ayahuasca* é utilizada por muitos pajés, chefes religiosos dos nativos da Amazônia, com o objetivo de revelar a “realidade verdadeira”. Esta bebida também é conhecida pelos nomes de hoasca, caapi, daime, natema, iajé, ou pindé, dependendo do país, e é preparada em água fria ou a partir da decocção do córtex de *Banisteriopsis caapi* (Spruce ex Griseb.) C.V. Morton, da família Malpighiaceae, sozinho ou em combinação com outras plantas alucinógenas, sendo que as folhas da chacruna ou chacrona (*Psychotria viridis* Ruiz et Pav.), um arbusto perenifólio da família das rubiáceas, são as mais empregadas (Callaway et al., 1999). Outras espécies de *Banisteriopsis* também são incorporadas à preparação da *ayahuasca*, destacando-se *Banisteriopsis inebrians* C.V. Morton

(Schultes et al., 2000). Como substituto de *Psychotria viridis* Ruiz et Pav. são utilizados *Psychotria carthagenensis* Jacq. e *Diplopterys cabrerana* (Cuatr.) B. Gates, sendo que existem controvérsias quanto à presença de alcalóides em *Psychotria carthagenensis* (Elisabetsky e Leal, 1996). A combinação destas espécies prolonga e intensifica os efeitos alucinógenos das espécies de *Banisteriopsis*, devido a um sinergismo na ação farmacológica das substâncias psicoativas, aumentando notadamente a duração e a vivacidade das alucinações. Os pajés relatam eventos durante o uso da ayahuasca que *...levam a transformação do espírito em jaguar, que voa pela floresta seguindo uma estrada feita de leite, e que ao final nos mostra o verdadeiro conhecimento...* A palavra *ayahuasca* provém da língua quechua e significa "trepadeira-da-alma". Existem muitos relatos fantásticos sobre a ação alucinógena da *ayahuasca*, que incluem a capacidade de atravessar paredes, de encontrar tesouros escondidos, de ver através das montanhas e de prever o futuro.

Banisteriopsis caapi (Spruce ex Griseb.) C.V. Morton nomeada pelo botânico inglês Richard Spruce sob o nome *Banisteria caapi*, e suas propriedades farmacológicas foram estudadas pelo toxicólogo alemão Louis Lewin, no final do século XIX. Lewin denominou a substância ativa da planta de telepatia (Rätsch, 1997). A *ayahuasca* é utilizada geralmente com fins religiosos, como por exemplo, na famosa cerimônia Yuruparí, um ritual de iniciação tucano dos adolescentes varões. Noutra tribo, os xibarás crêem que a *ayahuasca* possibilita a comunicação com seus antepassados e que, sob sua influência, a alma do homem pode abandonar o corpo e vagar livremente. O córtex de algumas espécies de *Banisteriopsis* também pode ser mastigado ou ser administrado por inalação na forma de pó, enquanto que as folhas da chacruna são utilizadas frescas ou secas para a preparação da *ayahuasca*. Nos últimos anos, surgiram na América do Sul e, em especial no Brasil, várias seitas religiosas que utilizam os efeitos alucinógenos desta bebida em seus rituais, misturando elementos do cristianismo e de religiões africanas. Entre estes grupos destacam-se os do Santo Daime, Santa Maria, União do Vegetal e Barquinha. A partir de 1987, o uso com finalidades religiosas da *ayahuasca* foi oficialmente reconhecido e protegido por lei no Brasil (Callaway et al., 1999; MacRae, 1998).

Dados químicos:

As folhas da chacruna (*Psychotria viridis* Ruiz et Pav.) contêm 0,1 a 0,6 % do alcalóide psicoativo *N,N*-dimetiltryptamina (DMT). Em *Banisteriopsis caapi* (Spruce ex Griseb.) C.V. Morton ocorre, também, a presença de derivados triptamínicos e de alcalóides β -carbolínicos, como a harmina, harmalina e a tetraidroarmina (figura 7). Os derivados β -carbolínicos se originam biossinteticamente a partir da triptamina, pela transformação da cadeia lateral etilamínica em um anel heterocíclico de seis membros (McKenna et al., 1995).

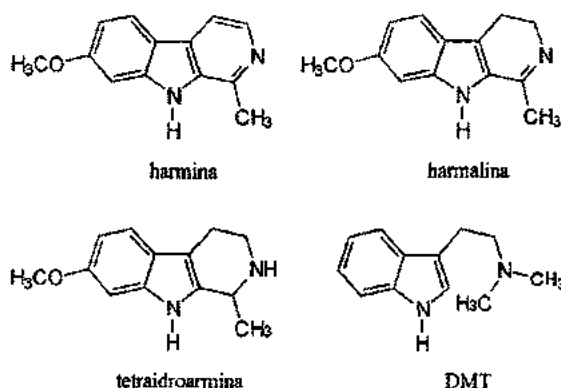


Figura 7. Estruturas dos principais alcalóides da bebida ayahuasca.

Dados farmacológicos:

O alcalóide harmina, principal componente alucinógeno presente em *Banisteriopsis caapi*, apresenta uma ação direta sobre os receptores de monoaminas, de maneira a inibir a união da triptamina em uma escala nanomolar e da serotonina em uma escala micromolar (Airaksinen et al. 1987; Grella et al., 1998). A DMT, presente em *Psychotria viridis*, quando ingerida por via oral, é inativada pela enzima monoaminoxidase (MAO), presente no fígado, via metabolismo de primeira passagem. Esta inativação não ocorre com a ingestão da bebida ayahuasca, já que os derivados β -carbolínicos, presentes em *Banisteriopsis caapi*, inibem fortemente a ação desta enzima e, assim, preservam a estrutura da DMT. Com isso, a DMT atinge o cérebro e exerce um agonismo serotoninérgico nos receptores 5-HT₂; seus efeitos psicoativos duram de 1 a 1,5 horas (Rätsch, 1997; Pomilio et al., 1999). A combinação *Banisteriopsis caapi* e *Psychotria viridis* produz respostas farmacológicas equivalentes às observadas em pacientes com psicose aguda (Schultes et al., 2000). Esse estado de alucinação reproduz a teoria da transmutação patológica da esquizofrenia, onde o decréscimo da atividade da MAO resulta na acumulação de alquilaminas indólicas fortemente alucinógenas, como DMT, bufotenina (5-hidróxi-*N,N*-dimetiltryptamina) e 5-metóxi-*N,N*-dimetiltryptamina. Estudos mostraram que esses compostos alucinógenos, detectados na urina após a ingestão da ayahuasca, também foram encontrados em amostras de urinas de pacientes que padecem de psicoses agudas e que nunca tiveram contato com a bebida (Pomilio et al., 1999). A tetraidroharmina inibe fracamente a MAO e seu mecanismo de ação é devido, possivelmente, à inibição da recaptação

da serotonina nos sítios pré-sinápticos. A duração de ação dos efeitos psicoativos da *ayahuasca* coincide com os níveis plasmáticos de alcalóides; em particular, o pico plasmático da DMT está associado com imagens visuais coloridas e confusas, com processos complexos de pensamento e com um estado geral de consciência aguçado. Quanto à farmacocinética, as concentrações plasmáticas máximas são alcançadas nos seguintes tempos: DMT (16 ng/ml em 107min), harmina (114 ng/ml em 102min), harmalina (6 ng/ml em 145min) e tetraidroharmina (91 ng/ml em 174min). Em média, 200 ml da bebida contém 25 mg de DMT e 40 mg de β -carbolinas, principalmente, harmina (Callaway et al., 1999; Freedland e Mansbach, 1999).

Toxicidade:

Quando esta bebida amarga e nauseabunda é ingerida, os efeitos variam da embriaguez agradável, sem consequências posteriores, a violentas reações que provocam vômito. Alguns sintomas, tais como vertigem, nervosismo e transpiração excessiva, aparecem antes das visões luminosas, que terminam com um sonho profundo, acompanhado de fantasias e febre, além de uma forte diarreia (Schultes et al., 2000). A estimulação vagal pela serotonina central é responsável pelos vômitos, enquanto que o aumento periférico da serotonina pode estimular a motilidade intestinal e induzir diarreia (Callaway et al., 1999). A adição de triptaminas, além de intensificar os efeitos alucinógenos, pode causar palpitações, convulsões, midríase e taquicardia. Os índios tucanos da Colômbia fazem distinção entre as espécies de trepadeiras utilizadas no preparo da *ayahuasca*, que talvez não sejam *Banisteriopsis caapi* e que, quando usadas incorretamente, podem até provocar a morte (Schultes et al., 2000).

Emprego terapêutico:

A inibição reversível da MAO pelos compostos β -carbólicos, presentes na *ayahuasca*, poderia ser uma alternativa menos tóxica em relação aos medicamentos utilizados atualmente (Schultes et al., 2000). Até o presente momento, não foi demonstrado que a *ayahuasca* provoca dependência psicológica ou física, e o fato de que os membros dos grupos religiosos que a utilizam apresentam perda de interesse no uso habitual de álcool, cigarro, cocaína e outras substâncias que causam dependência, poderia sugerir seu emprego no tratamento de dependentes químicos (Callaway et al., 1999). Neste sentido, os índios Takiwasis do Peru costumam utilizar a *ayahuasca* para o tratamento de dependentes de cocaína (Freedland e Mansbach, 1999).

IBOGA

Nome científico: *Tabernanthe iboga* Baill.

Família botânica: Apocynaceae

Nomes comuns: iboga, árvore-da-sabedoria, (português); iboga (espanhol)

Parte utilizadas: raízes

Desde tempos remotos, a iboga está inserida culturalmente na vida dos pe-

quenos pigmeus que vivem nas florestas tropicais do oeste africano, e representa o sacramento com as forças da natureza. É conhecida como “árvore-da-sabedoria”, e quem a consome imerge em viagens, através do tempo, onde é possível o contato com os antepassados (Rätsch, 1997). Esta planta alucinógena está também intimamente inserida no culto bwiti e em outras sociedades secretas do Gabão e do Congo, como planta alucinógena (McKenna, 1992; Schultes et al., 2000). Suas raízes frescas ou secas são ingeridas puras ou misturadas com água de côco, e empregadas como estimulante, tônico, afrodisíaco, para tratar problemas de nervos, contra febre, pressão alta e dor de dente. No Congo, a iboga era utilizada para combater a doença do sono transmitida pela mosca tsé-tsé. A planta é um arbusto de 1 a 1,5 m de altura, com diminutas flores amarelas, róseas ou manchadas de branco, e é encontrada entre as ervas daninhas dos bosques tropicais, sendo também cultivada, com frequência, nos jardins da população nativa. (McKenna, 1992). Durante o período colonial, os franceses comercializavam o extrato de iboga com o nome de *lambarence*, como um medicamento que servia para curar tudo, em especial casos de neurastenia e sífilis. Nos anos 60, o seu componente ativo, o alcalóide ibogaína, foi introduzido na psiquiatria pelo chileno Claudio Naranjo (Rätsch, 1997). Os alcalóides da iboga ocorrem em diversas espécies da família Apocynaceae e possuem em comum o esqueleto da ibogamina. A espécie *Peschiera affinis* (Müll. Arg.) Miers (= *Tabernaemontana affinis* Müll. Arg.) possui os mesmos alcalóides que a iboga, no córtex de suas raízes, e é utilizada no nordeste brasileiro como antitumoral e espasmolítico (Braz-Filho, 1976). Na Amazônia, a *Tabernaemontana sananho* Ruiz et Pav. é considerada um remédio universal, e suas folhas são adicionadas à *ayahuasca* para aguçar a memória e recordar melhor as visões experimentadas.

Dados químicos:

Foi na França, em 1901, que a ibogaína foi isolada, pela primeira vez, do córtex das raízes de *Tabernanthe iboga* Baill. (Rätsch, 1997). Este alcalóide terpeno-indólico é aparentado estruturalmente com os compostos β -carbólicos presentes na *ayahuasca* (McKenna, 1992). Os alcalóides da iboga são formados por uma porção triptamínica e uma porção terpênica, sendo essa última originada biossinteticamente a partir da secologanina (figura 8). Também ocorre, em teores significativos, os alcalóides tabernantina e ibogamina, que se diferenciam pelo grau de metoxilação no anel A (Dewick, 2002).

Dados farmacológicos:

O córtex das raízes da iboga pode ser raspado e ingerido como tal, ou prepara-se uma bebida com o pó do mesmo, que provoca colapso físico e alucinações. Nas cerimônias de iniciação, os iniciados permanecem sentados com a vista fixa no espaço e chegam quase a um estado de coma, sendo que doses excessivas podem resultar em morte (Schultes et al., 2000). Aproximadamente 10 g do pó das raízes da iboga já são considerados suficientes para provocar alucinações (Schultes et al., 2000). Em ratos, a ibogaína age como antagonis-

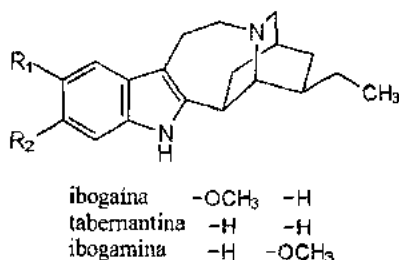


Figura 8. Estruturas dos principais alcalóides da iboga.

ta das subunidades $\alpha\beta\gamma$ dos receptores nicotínicos e diminui a auto-administração de morfina, cocaína, metanfetamina, nicotina e etanol (Glick et al., 2002). A ação sobre esses receptores resulta na inibição da liberação da dopamina no sistema mesolímbico, estimulada pelos opióides, pela cocaína e pela nicotina (Schneider et al., 1998). Além de interagir no sistema dopaminérgico, a ibogaína também atua nos sistemas noradrenérgico, serotoninérgico, colinérgico, nicotínico, κ - e σ -opiáceos, glutamato, neuroendócrino e neurotensina (Alburges et al., 2000). Seu mecanismo de ação não foi totalmente elucidado, mas sabe-se ainda que a ibogaína antagoniza o aumento da corticosterona, produzida pela administração de metanfetamina, fato este que poderia estar implicado no combate à dependência (Szumlinski et al., 2001).

Toxicidade:

A ibogaína é o alcalóide mais ativo da *Tabernanthe iboga*, que além de provocar visões fantásticas, pode causar paralisia, convulsões e até morte, quando ingerida em doses excessivas (sobredosagem). Doses altas produzem sinestesias auditivas, olfativas e gustativas, e o estado de ânimo pode variar do medo à euforia (Schultes et al., 2000).

Emprego terapêutico:

A ibogaína e seus derivados estão sendo intensamente investigados sob o ponto de vista neurofarmacológico, e os resultados desses trabalhos poderão corroborar, ainda mais, o seu emprego no processo de recuperação de dependentes em heroína e cocaína (Luciano, 1998; Sheppard, 1994). Com base no mecanismo de ação não competitivo dos receptores nicotínicos, a ibogaína poderia também desempenhar um papel importante no tratamento clínico da depressão (Fryer et Lukas, 1999) e na dependência causada pelo cigarro (Schneider et al., 1998). Atuando sobre os receptores nicotínicos, a ibogaína reverte a ação de estimulantes psicomotores, evidenciando sua atividade ansiolítica (Szumlinski et al., 2001). Atualmente, as raízes frescas de iboga são utilizadas em preparações homeopáticas (Rätsch, 1997).

5. DROGAS COLINÉRGICAS

AMANITA

Nome científico: *Amanita muscaria* L. ex Fr.

Família botânica: Agaricaceae

Nomes comuns: frade-de-sapo, mata-boi (português); matamoscas (espanhol); fly agaric (inglês)

Parte utilizada: corpo frutífero

Cogumelo que cresce em bosques, geralmente em claros abaixo de coníferas, e que pode alcançar 20 a 30 cm de altura. O seu píleo é viscoso, ovalado, hemisférico, quase plano nas bordas, e quando maduro mede de 8 a 20 cm de diâmetro. Possui estipe cilíndrico, oco, de cor branca, com 1 a 3 cm de diâmetro, com uma base em forma de bulbo, que forma um anel amarelo-pálido, muito visível. A variedade euro-asiática apresenta píleo vermelho-escarlate, com escamas brancas, em contraste com a variedade norte-americana que possui píleo amarelo ou alaranjado, com escamas amarelas. O gênero *Amanita* inclui cerca de 50 ou 60 espécies, que se diferenciam pela sua composição química e contêm um amplo número de metabólitos tóxicos. O uso da *Amanita muscaria* pelos feiticeiros, para provocar embriaguez orgiástica, foi relatado na Sibéria, em 1730, e apesar de ser, historicamente, o agente alucinógeno mais antigo utilizado pela humanidade, seu uso como tal, em rituais xamanistas, é muito pouco popularizado atualmente. Este cogumelo bem poderia ser o misterioso *soma* narcótico divino da Índia antiga, mencionado no Rig-Veda, e consumido pelos povos árias há 3.500 anos. Recentemente, foi descoberto que os indígenas Ojibwa, que habitam as margens do Lago Superior em Michigan, EUA, utilizam estes cogumelos em rituais sagrados (Schultes et al., 2000).

Dados químicos:

Um grande número de espécies de *Amanita*, além de provocar efeitos alucinógenos, é extremamente tóxico. Existem três classes de toxinas produzidas pelos taxa deste gênero (figura 9): as triptaminas (bufotenina), os peptídeos cíclicos denominados de falotoxinas e amatoxinas (α -amanitina) e os alcalóides isoxazólicos (ácido ibotênico). As toxinas das espécies venenosas, ex. *Amanita phalloides*, são peptídeos cíclicos e levam até uma hora para provocar efeito, depois de ingeridas (Evans, 2002). No entanto, uma vez que os sintomas do envenenamento se instalam, eles evoluem rapidamente: no início, um período de excitação e leve mal-estar gastrointestinal, com diarreia durante as primeiras 24 horas, seguido de um estado grave de convulsões musculares, vômitos, diminuição do pulso, dificuldade de respiração, delírios e coma durante 3 a 5 dias. Se medidas apropriadas não forem efetivadas com rapidez, tais como remoção do material tóxico do trato gastrointestinal e diálise sanguínea, o paciente acaba morrendo. Quando estas toxinas entram

na corrente sanguínea, os tecidos do fígado e dos rins são rapidamente destruídos. Os casos de envenenamento por cogumelos são quase sempre decorrentes da coleta e ingestão desta espécie venenosa por adultos que a confundem com uma espécie comestível, ex. *Agaricus campestris*. A dose letal destes peptídeos cíclicos é de 5 a 7 mg, para humanos adultos e, em média, um cogumelo contém cerca de 7 mg desses compostos (Dewick, 2002).

A princípio, pensou-se que a muscarina, um antagonista dos receptores colinérgicos, era o principal componente alucinógeno deste cogumelo. Hoje sabe-se que a muscarina desempenha um papel secundário na produção dos efeitos alucinógenos, já que foram isolados diversos compostos derivados do ácido ibotênico, que se formam mediante sua degradação espontânea para originar produtos mais estáveis (figura 9): a muscazona e o muscimol. No material fresco, o ácido ibotênico encontra-se presente na quantidade de 0,3-1 mg/Kg. A intoxicação é atingida com a ingestão de 1 a 4 cogumelos, secos ao sol ou ligeiramente tostados, e os efeitos fisiológicos aparecem no período de 15 a 60 minutos após sua ingestão. O consumo deste cogumelo provoca euforia, visões coloridas, macropsia (anormalidade da percepção em que os objetos são vistos aumentados de tamanho); em algumas ocasiões, pode ocorrer êxtase com delírio e sonho profundo. Contudo, a ingestão deste cogumelo não é fatal. Quando são ingeridas grandes quantidades de muscarina, podem ocorrer sintomas desagradáveis, tais como sudorese e salivação excessivas, contrações musculares involuntárias, espasmos abdominais (com evacuações involuntárias de fezes e urina), visão borrada e depressão respiratória. Existem relatos de que a intoxicação com *Amanita muscaria* pode provocar algumas contrações musculares, sem as manifestações dos sintomas antes enumerados (Furst, 1995). Por esta razão, conclui-se que a muscarina não deve ser a principal substância alucinógena desta espécie fúngica, responsável pelos efeitos psicoativos já relatados. Este fenômeno está relacionado diretamente ao modo pelo qual os aborígenes siberianos costumam preparar a *Amanita muscaria* para seu consumo e obter preparações mais potentes. Foi demonstrado que o muscimol é o componente psicoativo de maior importância e que seus poderosos efeitos alucinógenos poderiam explicar duas observações etnobotânicas: o costume de beber a urina de pessoas intoxicadas com este cogumelo e a preferência por comer cogumelos secos ao invés de frescos. Diversos trabalhos mostraram que o muscimol passa pelos rins sem sofrer alterações importantes, o que explicaria como o consumo da urina de uma pessoa intoxicada provoca os mesmos efeitos que a ingestão do cogumelo propriamente dito. Muito pouco se conhece sobre a absorção e a distribuição destas substâncias alucinógenas no organismo; contudo, o muscimol parece atravessar a barreira hemato-encefálica.

Dados farmacológicos:

A muscarina é um agonista da acetilcolina nos receptores muscarínicos. Não

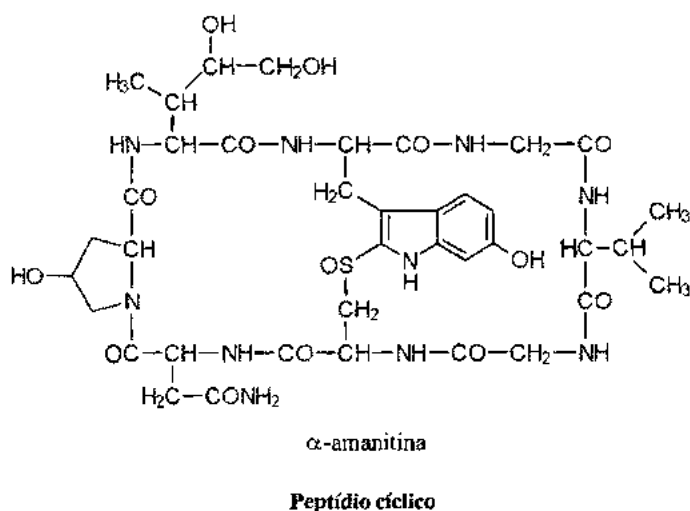
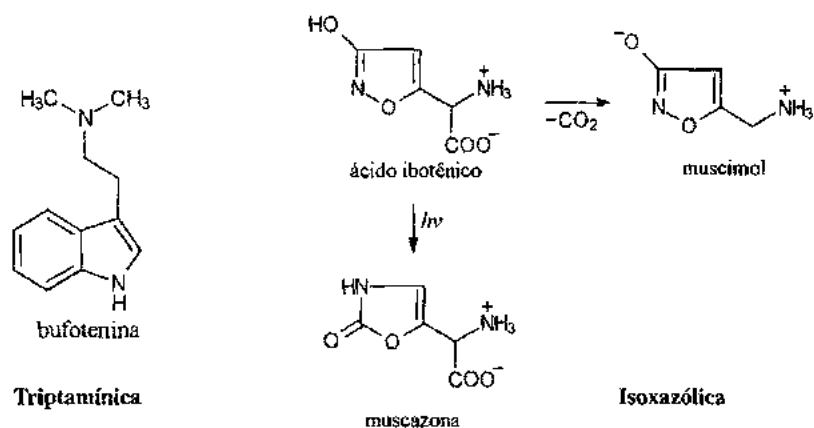


Figura 9. Toxinas isoladas de *Amanita* spp.

se conhece com exatidão o mecanismo dos efeitos psicoativos da amanita. O ácido ibotênico é estruturalmente relacionado com o glutamato, principal neurotransmissor excitatório, e ativa os receptores *N*-metil-D-aspartato (Madsen et al., 1990), bem como os receptores do glutamato (Brauner-Osbourne et al., 1998). Como ele, o ácido ibotênico também estimula a produção do trifosfato de inositol (através de um mecanismo mediado pela proteína G), a fosforilação dos substratos da proteína cinase C (Shoiz, 1994) e incrementa, ainda, a atividade enzimática da fosfolipase D (Boss e Conn, 1992). O muscimol é um agonista dos receptores GABA_A (Bekar et al., 1999). Apesar de, aparentemente, diferirem em seus mecanismos de ação, o ácido ibotênico e o muscimol produzem efeitos qualitativos similares, em nível psicossomático. Os constituintes de *Amanita muscaria* provocam uma alteração notável das funções motoras, em animais e humanos, que incluem tremores, contrações e convulsões das extremidades. A intoxicação com o muscimol caracteriza-se por distúrbios auditivos, visuais, tremores nos pés, sensação de desorientação e confusão, fadiga e sedação, seguidas de sono, sendo que a habilidade cognitiva diminui drasticamente (Schultes et al., 2000).

ESTRAMÔNIO

Nome científico: *Datura stramonium* L.

Família botânica: Solanaceae

Nomes comuns: figueira-do-inferno, trombeteira, erva-dos-feiticeiros, estramônio (português); toloache (mexicanismo); thornapple, jamestown weed, jimsonweed (inglês).

Partes utilizadas: folhas, raízes, frutos, sementes.

Aqui estão descritos os aspectos etnobotânicos e etnofarmacológicos associados às espécies do gênero *Datura* do Novo Mundo, enfocando particular atenção nos rituais mágico-religiosos dos povos da região mesoamericana, onde estas plantas constituem as drogas colinérgicas de maior uso xamanístico, desde tempos imemoriáveis. Os toloaches, como foram designados pelos antigos astecas, são plantas herbáceas, pertencentes ao gênero *Datura*, muito valorizadas na flora mexicana por suas propriedades alucinógenas e medicinais. Os diferentes códigos nahuas mencionavam as espécies herbáceas *Datura stramonium* L., *Datura innoxia* Mill. e *Datura metel* L. como *tolohuaxihuitl* (*tolohua* = erva inclinada ou cabeça inclinada; *xihuitl* = planta), *tolohua*, *tlápatl* e *mixitl*, fazendo referência à aparência dos seus frutos. Durante séculos, permaneceu a polêmica sobre a origem geográfica da espécie conhecida no México como *toloache* (*Datura stramonium* L.), que a maioria dos botânicos indicavam como sendo originária da Europa Oriental e Ásia. Entretanto, provas escritas e pictóricas certificam sua existência na América, antes da chegada dos conquistadores no século XVI. O frei Bernardino de Sahagún descreve assim a erva chamada de *tzitzintláptl* y *toloatzin*, na língua náuatle, pelos nativos mexicanos (CF Livro XI:7:1): ...é uma planta que cresce como matagal, que possui umas ca-

beças espinhosas, como limões. Possui folhas alargadas, flores brancas; a semente é negra e arredondada, que tira a fome daqueles que comem-nas, e embriagam e enlouquecem perpetuamente... (Sahagún, 2000). Os astecas não somente utilizavam as folhas e sementes destas plantas para fins religiosos, em rituais mágico-adivinhatórios, cujos estados de delírio mental foram interpretados pelos espanhóis como causa de loucura relacionada com espíritos malignos (Bye e Linares, 2000), mas também respeitavam os benefícios medicinais de outras plantas deste gênero (Furst, 1995). Sobre suas propriedades terapêuticas, Emmart (1940), em sua magnífica tradução do herbário asteca de 1552, conhecido como *Código de la Cruz Badiano*, primeiro tratado de *Materia Medica* do Novo Mundo (De la Cruz, 1991), descreveu que, entre os remédios mais interessantes figuravam os narcóticos e os analgésicos, utilizados para corrigir problemas ortopédicos, em operações cirúrgicas, em contusões e para reduzir inflamações. Os calmantes para dor eram aplicados externamente ou administrados internamente em poções.

No México, a espécie de toloache considerada como sagrada e reverenciada pelos astecas é *Datura ceratocaula* Ortega (Schultes et al., 2000). Os espíritos são evocados para tratar certas enfermidades e referem-se a esta planta como a irmã do ololiuhqui (a potente *Turbina corymbosa* (L.) Raf.), um dos *mantos del cielo* (as campainhas, espécies de trepadeiras da família das convolvuláceas do gênero *Ipomoea*, ver item 4.4). A expressão *torna loco* (= fica louco), como é conhecida popularmente a *Datura ceratocaula*, indica sua potente ação narcótica. Atualmente, seu uso varia consideravelmente entre os diferentes povos indígenas do México. Costuma-se preparar a droga adicionando-se sementes pulverizadas a bebidas fermentadas, ou macerando em água as folhas, os ramos e as raízes de várias espécies de *Datura*, que se aplicam localmente para reduzir inflamações e inchaços do corpo. As mulheres yaquis e de outras tribos do norte utilizam o cozimento das folhas para atenuar os sofrimentos do parto (Martínez, 1989). Os indígenas destas regiões procuram o estado de embriaguez consumindo infusões de suas folhas em *mezcal*, uma aguardente de agave, ou fumando ou mastigando seus frutos. Existe a crença popular de que as poções de toloache podem desencadear enfermidades e transtornos mentais por motivo de vingança ou para subjugar a vontade de uma pessoa. *Datura inoxia* Mill. (= *Datura meteloides* Dunal) é outra espécie de toloache empregada no México, pelos índios tarahumaras, em Chihuahua, na preparação de uma poção que mistura suas raízes, sementes e folhas ao *tesguino*, uma bebida fermentada obtida do milho (Furst, 1990). Acredita-se que a *Datura stramonium* L. seja nativa do oeste da América do Norte, onde os aloquines e outras tribos a utilizavam como alucinógeno, em rituais de xamanismo. A espécie sagrada dos povos aborígenes do oeste também é a *Datura inoxia* Mill. (Weil e Rosen, 1998). Os índios navajos conhecem as propriedades alucinógenas das espécies de *Datura* e as utilizam em rituais adivinhatórios, sempre com orientação mágica para

diagnosticar e curar enfermidades (Schultes et al., 2000). Um dos nomes comuns na língua inglesa norte-americana, *Jamestown weed*, ou em sua forma abreviada *Jimsonweed*, originou-se de uma intoxicação ocorrida entre os primeiros colonizadores da região de Jamestown, na Virgínia, EUA, no século XVII, que utilizaram a planta para preparar infusões, desconhecendo seus efeitos alucinógenos, que eram sagrados para os nativos da região em seus rituais de iniciação de jovens varões na adolescência (Furst, 1990). Martínez (1989) descreve o emprego de cigarros antiasmáticos, os quais são preparados misturando-se as folhas de algum toloache com as da digitalis (*Digitalis purpurea* L.) e da sálvia (espécies aromáticas das labiadas do gênero *Hyptis* ou *Salvia*). Essas são, então, maceradas por 24 horas, em solução aquosa de nitrato de potássio, escorridas e secas. Posteriormente, os cigarros são confeccionados com 4 g dessas folhas picadas. Também é relatado que, para alívio de dores reumáticas e nevralgias, podem ser realizadas fricções com um líquido que é preparado mediante a maceração de 60 g de sementes de toloache em 250 ml de álcool etílico, durante 15 dias.

No Velho Mundo, as espécies de *Datura* também gozaram de reputação histórica como alucinógeno sagrado e como remédio tradicional. Contudo, esse prestígio nunca teve a importância cerimonial xamanística que tiveram nas Américas. A espécie *Datura metel* L. é descrita como veneno em antigos documentos sânscritos e chineses. Suas propriedades narcóticas fizeram com que fosse utilizada como anestésico, misturada com maconha e/ou com bebidas alcoólicas, em casos de pequenas cirurgias. Também na China, era utilizada para curar erupções cutâneas no rosto e receitada, internamente, para tratar resfriados. Na Índia, era indicada para o tratamento de transtornos mentais, algumas febres, tumores, inflamações do peito, doenças de pele e diarreia, sendo que a absorção dos componentes ativos era obtida através do ato de fumar o material vegetal. Na atualidade, no Vietnã, as sementes e as folhas desta espécie são pulverizadas, misturadas com maconha ou tabaco e também fumadas (Schultes et al., 2000). Outros gêneros afins incluem as formas arborescentes ou as daturas arbóreas do gênero *Brugmansia*, conhecidas no México como *floripondios* (= trombeteiras), que crescem em locais úmidos da América do Sul, assim como as trepadeiras do gênero *Solandra*, que se distribuem na América tropical. Muitas espécies de *Brugmansia* foram de grande importância social e religiosa nas culturas andinas ancestrais. O estudo químico dessas espécies mostra a presença de alcalóides tropânicos do mesmo tipo que aqueles encontrados nas espécies de *Datura*. Para saber mais sobre as drogas vegetais clássicas do Velho Mundo produtoras de alcalóides tropânicos e muito usadas em práticas de feitiçaria na Antiguidade e na Idade Média, ex. beladona (*Atropa belladonna* L.), estramônio (*Datura stramonium* L.), meimendo (*Hyoscyamus niger* L.) e mandrágora (*Mandragora officinalis* L.). Na Idade Média, as feiteceiras preparavam emplastros com estas plantas para seus sortilégios. Entretanto, a absorção cutânea

das substâncias alucinógenas era baixa, conseguindo-se a intoxicação através da mucosa vaginal. A introdução na vagina do cabo de uma vassoura, ungido nestas preparações vegetais, era efetivo para a aplicação, criando uma sensação de leveza e falta de gravidade, originando as lendas de bruxas e suas vassouras voadoras. Estas drogas colinérgicas também foram utilizadas para gerar um estado de confusão mental, durante o qual o intoxicado acreditava ter-se transformado em lobo, conhecido como licantrópia. As descrições de casos de licantrópia, ocorridos na Grécia Antiga, lembram os sintomas de intoxicações por substâncias colinérgicas (Schultes et al., 2000).

O gênero *Datura* apresenta altos teores de alcalóides tropânicos. Sobre a química, as ações farmacológicas e o emprego terapêutico dos alcalóides tropânicos, ver capítulo “Alcalóides tropânicos”.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABEL, E.L. *Marihuana: the first twelve thousand years*. New York: Plenum, 1980.
- AGHAJANIAN, G.K.; MAREK, G.J. Serotonin and hallucinogens. *Neuropsychopharmacology*, v. 21, p. 16S-23S, 1999.
- AIRAKSINEN, M.M.; LECKLIN, A.; SAANO, V.; TUOMISTO, L.; GYNTHYER, J. Tremorigenic effect and inhibition of tryptamine and serotonin binding by beta-carbolines. *Pharmacol. Toxicol.*, v. 60, p. 5-8, 1987.
- ALBURGES, M.E.; RAMOS, B. P.; BUSH, L.; HANSON, G.R. Responses of the extrapyramidal and limbic substance P systems to ibogaine and cocaine treatments. *Eur. J. Pharmacol.*, v. 390, p. 119-126, 2000.
- AMATO, T.; DUMAS, P.; SAOUD, M.; BOUAFIA, S.; GUTKNECHT, C.; ECOCHARD, R.; DALÉY, J.; ROCHET, T. Cannabis use correlates with schizotypal personality traits in healthy students. *Psychiat. Res.*, v. 109, p. 27-35, 2002.
- AMOR-PRATS, D.; HARBORNE, J.B. Allelochemical effects of ergoline alkaloids from *Ipomoea parasitica* on *Heliothis virescens*. *Chemoecology*, v. 41, p. 55-61, 1993.
- ANDERSON, E.F. *Peyote: The divine cactus*. Tucson: The University of Arizona, 1996.
- ANONYMOUS. United States: a field full of buttons. *The Economist*, London, April 3, 1999.
- BAH, M.; PEREDA-MIRANDA, R. Isolation and structural characterization of new glycolipid ester type dimers from the resin of *Ipomoea tricolor* (Convolvulaceae). *Tetrahedron*, v. 53, p. 9007-9022, 1997.
- BALDWIN, G. C.; TASHKIN, D. P.; BUCKLEY, D. M.; PARK, A. N.; DUBINETT, S. M.; ROTH, M. D. Marijuana and cocaine impair alveolar macrophage function and cytokine production. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, v. 156, p. 1606-1613, 1997.
- BANDYOPADHYAY, R.; FREDERICKSON, D.E.; McLAREN, N.W.; ODVODY, G.N.; RYLEY, M.J. Ergot: a new disease threat to sorghum in the Americas and Australia. *Plant Disease*, v. 82, p. 356, 1998.
- BARRETT, S.P.; ARCHAMBAULT, J.; ENGELBERG, M.J.; PIHL, R.O. Hallucinogenic drugs attenuate the subjective response to alcohol in humans. *Hum. Psychopharmacol. Clin. Exp.*, v. 15, p. 559-565, 2000.
- BEKAR, L.K.; JABS, R.; WALZ, W. GABA_A receptor agonist modulates K⁺ currents in adult hippocampal glial cells *in situ*. *Glia*, v. 26, p. 129-138, 1999.

- BENITEZ, F. *En la tierra mágica del peyote*. México: ERA, 1988.
- BOSS, V.; CONN, P.J. Metabotropic excitatory amino acid receptor activation stimulates phospholipase D in hippocampal slices. *J. Neurochem.*, v. 59, p. 2340-2343, 1992.
- BRAUNER-OSBOURNE, H.; NIELSE, B.O.; KROGSGAARD-LARSEN, P. Molecular pharmacology of homologues of ibotenic acid at cloned metabotropic glutamic acid receptors. *Eur. J. Pharmacol.*, v. 350, p. 311-316, 1998.
- BRAVO HOLLIS, H.O.; SCHEINVAR, L. *El interante mundo de las cactáceas*. México: Fondo de Cultura Económica, 1999.
- BRAZ-FILHO, R.; MATOS, F.J.A.; GOTTLIEB, O.R.; MACHADO, F.W.L.; MADRUGA, M.L.L.M. 20-Epiheyneanine, an iboga alkaloid from *Peschiera affinis*. *Phytochemistry*, v. 15, p. 551-553, 1976.
- BREITMAIER, E. *Alkaloide. Betäubungsmittel, Halluzinogene und andere Wirkstoffe, Leitstrukturen aus der Natur*. Stuttgart: Teubner, 1997.
- BRENNEISEN, R.; HELMLIN, H.-J.; BOURQUIN, D. Determination of phenylethylamines in hallucinogenic cactus species by high-performance liquid chromatography with photodiode-array detection. *J. Chromatogr.*, v. 623, p. 381-385, 1992.
- BRITISH MEDICAL ASSOCIATION. *Therapeutic uses of cannabis*. Amsterdam: Harwood Academic, 1997.
- BROWN, J.H.; TAYLOR, P. Muscarinic receptor agonists and antagonists. In: *Goodman and Gilman's The pharmacological basis of therapeutics*. HARDMAN, J.G.; LIMBIRD, L.E.; MOLINOFF, P.B.; RUDDON, R.W.; GOODMAN GILMAN A. (ed.). New York: McGraw-Hill, p. 141-160, 1996.
- BRUHN, C.; BRUHN, J.G. Alkaloids and ethnobotany of Mexican peyote cacti and related species. *Econ. Bot.*, v. 27, p. 241-251, 1973.
- BUCKHOLTZ, N.S.; ZHOU, D.F.; FREEDMAN, D.X.; POTTER, W.Z. Lysergic acid diethylamine (LSD) administration selectively downregulates serotonin-2 receptors in rat brain. *Neuropsychopharmacol.*, v. 3, p. 137-148, 1990.
- BYE, R.; LINARES, E. Mexico's maddening plants of the sixteenth century according to the Florentine Codex. In: QUINONES KEBER, E. (ed.): *In Chalchihuitl in Quetzalli. Precious Greenstone. Precious Quetzal Feather. Mesoamerican Studies in Honor of Doris Heyden*. Lancaster: Labyrinthos, 2000. p. 15-28.
- CALLAWAY, J.C.; MCKENNA, D.J.; GROB, C.S.; BRITO, G.S.; RAYMON, L.P.; POLAND, R.E.; ANDRADE, E.N.; ANDRADE, E.O.; MASH, D.C. Pharmacokinetics of Hoasca alkaloids in healthy humans. *J. Ethnopharmacol.*, v. 65, p. 243-256, 1999.
- CHILDERS, S.R.; BREIVOGEL, C.S. Cannabis and endogenous cannabinoid systems. *Drug Alcohol Depend.*, v. 51, p. 173-187, 1998.
- DE LA CRUZ, M. *Libellus de Medicinalibus Indorum Herbis*. México: Fondo de Cultura Económica/Instituto Mexicano del Seguro Social, 1991.
- DEWICK, P.M. *Medicinal natural products. A biosynthetic approach*. New York: John Wiley, 2002.
- DOBKIN DE RIOS, M. *Hallucinogens. Cross-cultural perspectives*. Prospect Heights: Waveland, 1996.
- DORRANCE, D.L.; JANIGER, O.; TEPLITZ, R.L. Effect of peyote on human chromosomes. Cytogenetic study of the Huichol Indians of Northern Mexico. *J. Am. Med. Assoc.*, v. 234, p. 299-302, 1975.

- ELISABETSKY, E.; LEAL, M.B. Absence of alkaloids in *Psychotria carthagenensis* Jacq. (Rubiaceae). *J. Ethnopharmacol.*, v. 54, p. 37-40, 1996.
- EMBODEN, W. A. *Narcotic Plants*. New York: Macmillan, 1972.
- EMMART, E.W. *The Badianus manuscript (Codex Barberini, Latin 241). An aztec Herbal of 1552*. Baltimore: Johns Hopkins, 1940.
- EMRICH, H.M.; LEWEKE, F.M.; SCHNEIDER, U. Towards a cannabinoid hypothesis of schizophrenia: cognitive impairments due to dysregulation of the endogenous cannabinoid system. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, v. 56, p. 803-807, 1997.
- EVANS, W.C. Hallucinogenic, allergenic, teratogenic and other toxic plants. In: EVANS, W.C. (ed.). *Trease and Evans Pharmacognosy*. Edinburg: Saunders, 2002. p. 499-508.
- FREEDLAND, C.S.; MANSBACH, R.S. Behavioral profile of constituents in ayahuasca, an Amazonian psychoactive plant mixture. *Drug Alcohol Depend.*, v. 54, p. 183-194, 1999.
- FRYER, J.D.; LUKAS, R.J. Noncompetitive functional inhibition at diverse human nicotinic acetylcholine receptor subtypes by bupropion, phencyclidine and ibogaine. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, v. 288, p. 88-92, 1999.
- FURST, P.T. *Ariocarpus retus*, the false peyote of Huichols tradition. *Econ. Bot.*, v. 25, p. 182-187, 1971.
- FURST, P.T. Morning glory and mother goddess at Tepantitla, Teotihuacan: iconography and analogy in pre-Columbian art. In: HAMMOND, N. (ed.) *Symposium on Mesoamerican Archeology 1972: Mesoamerican Archeology New Approaches*. Austin: University of Texas, 1974. p. 187-215.
- FURST, P.T. *Flesh of the Gods. The ritual use of hallucinogens*. Prospect Heights: Waveland, 1990.
- FURST, P.T. *Enciclopedia de las drogas psicoactivas. Hongos. Especies alucinógenas*. México: Diana, 1995.
- FURST, P.T. This little book of herbs: psychoactive plants as therapeutic agents in the Badianus Manuscript of 1552. In: SCHULTES, R.E.; VON REIS, S. (ed.). *Ethnobotany. Evolution of a discipline*. Portland: Discorides, Timber, 1995. p. 108-130.
- GAONI, Y.; MECOULAM, R. Isolation, structure and partial synthesis of an active constituent of haxixe. *J. Am. Chem. Soc.*, v. 86, p. 1646-1647, 1964.
- GLICK, S.D.; MAISONNEUVE, I.M.; KITCHEN, B.A.; FLECK, M.W. Antagonism of $\alpha 3 \beta 4$ nicotinic receptors as a strategy to reduce opioid and stimulant self-administration. *Eur. J. Pharmacol.*, v. 438, p. 99-105, 2002.
- GOTTLIEB, A. *Peyote and other psychoactive cacti*. Berkeley: Ronin, 1997.
- GRELLA, B.; DUKAT, M.; YOUNG, R.; TEITLER, M.; HERRICK-DAVIS, K.; GAUTHIER, C.B.; GLENNON, R.A. Investigation of hallucinogenic and related beta-carbolines. *Drug Alcohol Depend.*, v. 50, p. 99-107, 1998.
- GRIESHABER, A.F.; MOORE, K.A.; LEVINE, B. The detection of psilocin in human urine. *J. Forensic Sci.*, v. 46, p. 627-630, 2001.
- GROSS, M. Fresh look at potential cannabis therapies. *Curr. Biol.*, v. 11, p. R947-R948, 2001.
- HARDMAN, H.F.; HAAVIK, C.O.; SEEVERS, M.H. Relationship of the structure of mescaline and seven analogs to toxicity and behavior in five species of laboratory animals. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, v. 25, p. 299-309, 1973.
- HERNANDEZ, F. *Obras completas. Tomo III. Historia natural de Nueva España*. México: Universidad Nacional Autónoma de México, 1959. v. II, p. 73.

- HIRSCH, K.S.; FRITZ, H.I. Teratogenic effects of mescaline, epinephrine, and norepinephrine in the hamster. *Teratology*, v. 23, p. 287-291, 1981.
- HOFMANN, A. The active principles of the seeds of *Rivea corymbosa* (L.) Hall F. (Ololiuhqui, Badoh) and *Ipomoea tricolor* Cav. (Badoh negro). In: *Summa anthropologica en homenaje a Roberto J. Weitlaner*. México: Instituto Nacional de Antropología e Historia, 1967, p. 349-357.
- HUXLEY, A. *The doors of perception*. New York: Harper, 1954.
- IZZO, A.A.; NOCERINO, E.; AMATO, M. Cannabis and cannabinoid receptors. *Fitoterapia*, v. 71, p. S6-S12, 2000.
- JULIEN, R. M. *A primer of drug action*. New York: W.H. Freeman, 1998.
- KLEIN, T. W.; LANE, B.; NEWTON, C. A.; FRIEDMAN, H. The cannabinoid system and cytokine network. *Exp. Biol. Med.*, v. 225, p. 1-8, 2000.
- LA BARRE, W. Old and New World narcotics: a statistical question and an ethnological reply. *Econ. Bot.*, v. 24, p. 73-80, 1970.
- LORENZI, H. *Plantas daninhas do Brasil. Terrestres, aquáticas, parasitas e tóxicas*. São Paulo: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2000, p. 207-224.
- LUCIANO, D. Observations on treatment with ibogaine. *Am. J. Addict.*, v. 7, p. 89-90, 1998.
- MacRAE, E. Santo Daime and Santa Maria: The licit ritual use of ayahuasca and illicit use of cannabis in Brazilian Amazonian religion. *Int. J. Drug Policy*, v. 9, p. 325-338, 1998.
- MADSEN, U.; FERKANY, J.W.; JONES, B.E.; EBERT, B.; JOHANSEN, T. N.; HOLM, T.; KROGSGAARD-LARSEN, P. NMDA receptor agonists derived from ibotenic acid. Preparation, neuroexcitation and neurotoxicity. *Eur. J. Pharmacol.*, v. 189, p. 381-391, 1990.
- MARTINEZ, M. *Las plantas medicinales de México*. 6. ed. México: Botas, 1989.
- MALFAIT, A.M.; GALLILY, R.; SUMARIWALLA, P.F.; MALIK, A.S.; ANDRE- AKOS, E.; MECHOULAM, R.; FELDMANN, M. The nonpsychoactive cannabis constituent cannabidiol is an oral anti-arthritic therapeutic in murine collagen-induced arthritis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, v. 97, p. 9561-9566, 2000.
- MATA, R.; MacLAUGHLIN, J.L. Cactus alkaloids. 50. A comprehensive tabular summary. *Rev. Lat. Quim.*, v. 12, p. 95-117, 1982.
- McKENNA, T. *Food of the Gods. The search for the original tree of knowledge. A radical history of plants, drugs, and human evolution*. New York: Bantam, 1992.
- McKENNA, D.J.; LUNA, L.E.; TOWERS, G.N. Biodynamic constituents in ayahuasca admixture plants: An uninvestigated folk pharmacopeia. In: Schultes, R.E.; Von Reis, S. (eds.). *Ethnobotany. Evolution of a discipline*. Portland: Dioscorides, Timber, 1995, p. 349-361.
- MECHOULAM, R.; FRIDE, E. DIMARZO, V. Endocannabinoids. *Eur. J. Pharmacol.*, v. 359, p. 1-18, 1998.
- NEAL, J.M.; SATO, P. T.; HOWALD, W.N. Peyote alkaloids: identification in the Mexican cactus *Pelecyphra aselliformis* Ehrenberg. *Science*, v. 176, p. 1131-1133, 1972.
- PEREDA-MIRANDA, R. Bioactive natural products from traditionally used Mexican plants. In: ARNASON, J.T.; MATA, R.; ROMEO, J.T. (ed.). *Phytochemistry of medicinal plants*. New York: Plenum, 1995, p. 83-112.
- PEREDA-MIRANDA, R.; HERNANDEZ-CARLOS, B. HPLC isolation and struc-

- tural elucidation of diastereomeric niloyl ester tetrasaccharides from Mexican scammony root. *Tetrahedron*, v. 58, p. 3145-3354, 2002.
- PERTWEE, R.G. Pharmacological, physiological and clinical implications of the discovery of cannabinoid receptors: an overview. In: PERTWEE, R.G. (ed.). *Cannabinoid receptors*. London: Academic, 1995. p. 1-34.
- PIOMELLI, D. Le cannabis: de la drogue au médicament. *La Recherche*, v. 323, p. 58-64, 1999.
- POMILIO, A.B.; VITALE, A.A.; CIPRIAN-OLLIVIER, J.; CETKOVICH-BAKMAS, M.; GÓMEZ, R.; VÁZQUEZ, G. Ayahoasca: an experimental psychosis that mirrors the transmethylation hypothesis of schizophrenia. *J. Ethnopharmacol.*, v. 65, p. 29-51, 1999.
- RABIN, R.A.; WINTER, J.C.; FIORELLA, D.J.; TIMINERI, D.M.; FILIPINK, R.A.; HELSLEY, S.E. Serotonergic receptor subtypes and hallucinogen-induced stimulus control. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, v. 64, p. 283-293, 1999.
- RAO, G.S. Identity of peyocactin, an antibiotic from peyote (*Lophophora williamsii*), and hordenine. *J. Pharm. Pharmacol.*, v. 22, p. 544-545, 1970.
- RÄTSCH, C. H. *Medizin aus dem Regenwald. Die Weisheit der Naturvölker*. Stuttgart: NaturaMed/Hampp, 1997.
- RECH, R.H.; COMMISSARIS R.L. Neurotransmitter basis of the behavioral effects of hallucinogens. *Neurosci. Biobehav. Rev.*, v. 6, p. 521-527, 1982.
- SAHAGUN, B. *Historia general de las cosas de Nueva España. Vols. I-III. Paleografía, glosario e notas de A. López Austin e J. García Quintana*. México: Consejo Nacional para la Cultura y las Artes, 2000.
- SCHNEIDER, A. S.; MAH, S. J.; TANG, Y.; LIAUW, P. E.; NAGEL, J. E. Ibogaine acts at the nicotinic acetylcholine receptor to inhibit catecholamine release. *Brain Res.*, v. 797, p. 173-180, 1998.
- SCHNEIDER, U.; MÜLLER-VAHL, K. R.; STUHRMANN, M.; GADZICKI, D.; HELLER, D.; SEIFERT, J.; EMRICH, H.N. Die Bedeutung des endogenen Cannabinoidsystems bei verschiedenen neuro-psychiatrischen Erkrankungen. *Fortschr. Neurol. Psychiatr.*, v. 68, p. 433-438, 2000.
- SCHULTES, R. E.; HOFMANN, A.; RÄLSH, C. *Plantas de los Dioses. Orígenes del uso de los alucinógenos*. México: Fondo de Cultura Económica, 2000.
- SHEPPARD, S.G. A preliminary investigation of ibogaine: case reports and recommendations for further study. *J. Subst. Abuse Treat.*, v. 11, p. 379-385, 1994.
- SHOLZ, W.K. An ibotenate-selective metabotropic glutamate receptor mediates protein phosphorylation in cultured hippocampal pyramidal neurons. *J. Neurochem.*, v. 62, p. 1764-1772, 1994.
- SHULGIN, A.T. Mescaline: the chemistry and pharmacology of its analogs. *Lloydia*, v. 36, p. 46-58, 1973.
- SIEGEL, R.K. *Intoxication. Life in pursuit of artificial paradise*. New York: Dutton, 1989.
- SOLOWIJ, N.; STEPHENS, R. S.; ROFFMAN, R.A.; BABOR, T.; KADDEN, R.; MILLER, M.; CHRISTIANSEN, K.; MCCREE, B.; VENDETTI, J. Cognitive functioning of long-term heavy Cannabis users seeking treatment. *J. Am. Med. Assoc.*, v. 287, p. 1123-1131, 2002.
- SPINELLA, M. *The psychopharmacology of herbal medicine. Plant drugs that alter mind, brain, and behavior*. Cambridge: Massachusetts Institute of Technology, 2001. p.329-428.

- STEVENSON, R. Cannabis: proscribed or prescribed? *Chem. Br.*, p. 34-36, 1998.
- STRAUS, S.E. Immunoactive cannabinoids: therapeutic prospects for marijuana constituents. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, v. 97, p. 9363-9364, 2000.
- SZUMLINSKI, K.K.; HASKEW, R.E.; BALOGUN, M.Y.; MAISONNEUVE, I.M.; GLICK, S.D. Iboga compounds reverse the behavior disinhibiting and corticosterone effects of acute methamphetamine: implications for their antiaddictive properties. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, v. 69, p. 485-491, 2001.
- TARTER, R.E.; KIRISCI, L.; AKINCI, I.H. Concordance between verbal report and urine screen of recent marijuana use in adolescents. *Addictive Behav.*, v. 26, p. 613-619, 2001.
- URBINA, M. El peyote y el ololiuhqui. *Anales del Museo Nacional de México*, v. 7, p. 25-48, 1903.
- VOLLENWEIDER, F.X.; VOLLENWEIDER, S.M.F.; VOGEL, H.; HELL, D. Psilocybin induces schizophrenia-like psychosis in humans via a serotonin-2 agonist action. *NeuroReport*, v. 17, p. 3897-3902, 1998.
- WASSON, R.G.; COWAN, G.; COWAN, F.; RHODES, W. *María Sabina and her Mazatec mushroom Velada*. New York: Harcourt Brace Jovanovich, 1974.
- WASSON, R.G. *The wondrous mushroom. Mycolatry in Mesoamerica*. New York: Mc Graw Hill, 1980.
- WITTCHEN, H.-U.; SYDOW, VON K.; LIEB, R.; PFISTER, H.; HÖFLER, M.; SONNTAG, H. The natural course of cannabis use, abuse and dependence over four years: longitudinal community study of adolescents and young adults. *Drug Alcohol Depend.*, v. 64, p. 347-361, 2001.

7. SUGESTÕES PARA LEITURA

- FURST, P.T. *Hallucinogens and culture*. Novato: Chandler and Sharp, 2000.
- GRINSPOON, L.; BAKALAR, J.B. *Marihuana, the forbidden medicine*. New Haven: Yale University, 1997.
- SCHULTES, R.E.; HOFMAN, A. *The botany and chemistry of hallucinogens*. Springfield: C.C. Thomas, 1980.
- SPINELLA, M. *The psychopharmacology of herbal medicine. Plant drugs that alter mind, brain, and behavior*. Cambridge: Massachusetts Institute of Technology, 2001.
- WEIL, A.; ROSEN, W. *From chocolate to morphine. Everything you need to know about mind-altering drugs*. New York: Houghton Mifflin, 1998.

PLANTAS TÓXICAS

AUTORES

Eloir Paulo Schenkel
Marlene Zannin
Lilian Auler Mentz
Sérgio Augusto de Loreto Bordignon
Bruno Irgang

SUMÁRIO DO CAPÍTULO

1. Introdução
2. O que são plantas tóxicas?
3. Importância do conhecimento sobre plantas tóxicas
4. Como ocorrem as intoxicações
5. Registros de intoxicações
6. Principais plantas tóxicas
7. Outras plantas de importância toxicológica
8. Prevenção de intoxicações por plantas
9. Primeiras medidas em casos de intoxicações por plantas
10. Endereços dos Centros de Informações Toxicológicas
11. Lista de livros importantes para a identificação de plantas relacionadas com intoxicações
12. Referências bibliográficas

1. INTRODUÇÃO

Ao longo do tempo, plantas tóxicas foram consideradas de modo muito diverso. Em épocas remotas, e também no século XX em algumas regiões, plantas tóxicas exerceram papel importante para prover alimentação, através do uso como veneno de flechas na caça ou como veneno para peixes. Ampla utilização é referida na Idade Média, com fins políticos, militares ou pessoais, como recurso em envenenamentos intencionais. A tradição do uso intencional remonta à antiguidade, como a utilização da cicuta (*Conium maculatum* L.) no processo de condenação à morte de Sócrates. Mais recentemente, ao fim do século XIX e início do século XX, plantas tóxicas exerceram importante papel como fonte de substâncias ativas, capazes de propiciar modelos moleculares para o desenvolvimento de fármacos.

Atualmente, o principal interesse em plantas tóxicas está relacionado com o potencial de causar intoxicações em seres humanos ou em animais, com prejuízos significativos à saúde pública e à pecuária. O presente capítulo está centrado em plantas capazes de causar intoxicações em humanos; para plantas relacionadas com intoxicações em animais ver Riet-Correa et al. (1993), Méndez e Riet-Correa (2000) e Tokarnia et al. (2000).

2. O QUE SÃO PLANTAS TÓXICAS?

O número de vegetais superiores é estimado em 250 mil espécies (ver capítulo "Nomenclatura botânica, clas-

sificação e identificação de plantas medicinais"). Muitas dessas espécies produzem substâncias capazes de exercer ação tóxica sobre organismos vivos. Segundo hipóteses mais recentes, metabólitos secundários de plantas seriam formados com a função de defender a espécie de predadores. Por isso, não é surpreendente que muitas plantas acumulem substâncias de elevada toxicidade. Exemplos dessas substâncias são os glicosídeos cianogênicos, presentes na mandioca-brava, entre outras plantas, proteínas tóxicas como a ricina, presente na mamona, e muitos alcalóides como a coniina, presente na cicuta, e a estricnina, presente na noz-vômica. Portanto, com a diversidade existente no reino vegetal e particularmente nas regiões tropicais, o número de plantas potencialmente tóxicas é elevado. É de se ressaltar que muitas dessas plantas são completamente desconhecidas quanto ao potencial de causar intoxicações. Exemplifica essa questão o relato recente da morte de uma criança de três anos atribuída à ingestão de sementes de *Hennecartia omphalandra* Poiss. (pimenteira-do-mato), planta nativa na região sul, apresentando um quadro de vômitos e convulsões.*

Em algumas obras clássicas (Hoehne, 1939; Kingsbury, 1964), centenas de plantas são citadas como tóxicas. No entanto, a margem de certeza sobre a toxicidade de uma planta é limitada por uma série de fatores. Para ocorrer a intoxicação, seja por ingestão de uma dose tóxica, seja pelo contato através da pele, devem ser vencidos, no processo, os mecanismos próprios de defesa de cada organismo. Assim, uma planta pode ser potencialmente tóxica e, apesar disso, não provocar a intoxicação, determinando, nesse caso, a convicção equivocada de ausência de toxicidade.

A verificação da toxicidade depende principalmente de experimentos em animais, que nem sempre reproduzem a toxicidade em seres humanos, ou de relatos sobre intoxicações acidentais. Infelizmente, a maior parte desses relatos não é acompanhada de informações quanto à quantidade ou parte do vegetal ingerido, ou ainda quanto à identificação da planta através de nomes científicos. Além disso, as substâncias tóxicas em uma planta podem estar limitadas a uma estação do ano ou a certas condições ambientais, ou ainda a certas variedades ou cultivares.

Apesar dessa margem de incerteza, existe um número elevado de plantas de toxicidade documentada e neste capítulo serão abordadas aquelas comprovadamente capazes de causar intoxicações em humanos.

3. IMPORTÂNCIA DO CONHECIMENTO SOBRE PLANTAS TÓXICAS

Todos os profissionais das áreas da saúde e biologia podem exercer importante papel na prevenção de intoxicações por plantas. Neste aspecto, um destaque especial quanto à responsabilidade deve ser atribuído ao farmacêutico, tendo em vista que a farmácia é geralmente o estabelecimento de saúde de mais

*Registro junto ao Centro de Informações Toxicológicas do Estado de Santa Catarina, outubro de 1997.

fácil acesso, na qual as pessoas buscam informação em casos de dúvidas sobre a toxicidade de uma planta ou em intoxicações acidentais. Ainda, pela sua formação básica, abrangendo botânica, química, farmacognosia e farmacologia, deve ser capaz de entender os riscos e a natureza das intoxicações, bem como de familiarizar-se com o potencial tóxico das plantas da sua região.

4. COMO OCORREM AS INTOXICAÇÕES

As intoxicações em humanos ocorrem de diferentes formas, de acordo com a faixa etária. Em crianças até 3 anos de idade as ocorrências, de modo geral, estão relacionadas com plantas ornamentais, presentes nos domicílios, destacando-se as intoxicações com espécies de *Dieffenbachia* (comigo-ninguém-pode). Entre crianças um pouco maiores, já assumem maior importância as intoxicações fora do ambiente caseiro, com plantas encontradas em parques, pátios, jardins, que exerçam alguma atração, por terem flores, frutos ou sementes coloridas e ainda, por terem látex, eventualmente utilizadas em brincadeiras, destacando-se espécies de *Euphorbiaceae*. Em jovens e adultos, as formas de intoxicação são diversas, desde aquelas devido a reações alérgicas pelo contato acidental com espécies ornamentais, até aquelas intencionais, como a utilização de algumas plantas pela suposta ação alucinógena, ou ainda a utilização com fim alimentar de uma planta identificada incorretamente. Como exemplo pode-se citar a intoxicação de uma família pela ingestão de *Nicotiana glauca* Graham (charuto-do-rei), utilizada como alimento, na suposição de tratar-se de uma variedade de couve, fato ocorrido na cidade de Porto Alegre em 1983.

5. REGISTROS DE INTOXICAÇÕES

Os dados sobre as ocorrências de intoxicações pela ingestão ou contato com plantas nem sempre são encontrados, visto que casos leves geralmente não são levados aos hospitais. Os casos que chegam apenas aos consultórios médicos, via de regra, também não são registrados. No Brasil existem centros de informações toxicológicas nos estados (algumas vezes mais de um centro por estado, como p.ex., São Paulo e Paraná), responsáveis por fornecer informações. O registro ocorre, de forma geral, quando é buscada uma informação ou aconselhamento (ver endereços ao final deste capítulo).

Em um levantamento realizado junto ao Centro de Informação Toxicológica do Estado de Santa Catarina (CIT/SC)*, foram observados 691 registros de intoxicações por plantas no período entre maio de 1984 e dezembro de 1997. A análise desses registros mostra que um número restrito de plantas está relacionado com a maioria das intoxicações. A tabela 1 relaciona as plantas com número

* Pela acessibilidade dos dados referentes a intoxicações com plantas agradecemos à equipe do Centro de Informações Toxicológicas do Estado de Santa Catarina.

superior a dez registros naquele período; esse conjunto esteve relacionado com cerca de 70% dos eventos e inclui as plantas que podem ser consideradas como as de maior risco toxicológico na região sul do Brasil. É de se destacar que apenas uma delas, comigo-ninguém-pode, foi apontada em cerca de 30% dos casos, e o conjunto de espécies identificadas tentativamente como pertencentes à família Araceae, também utilizadas como ornamentais (antúrio, banana-de-macaco, copo-de-leite, costela-de-adão, jibóia e taió) alcança 35% dos registros. O segundo grupo de plantas mais frequentemente envolvidas em intoxicações é constituído por espécies da família Euphorbiaceae (coroa-de-cristo, eufórbia, mamona, mandioca, nogueira e pinhão-paraguaio), que perfazem cerca de 30% dos casos.

TABELA 1

Principais plantas registradas como causadoras de intoxicações no período entre maio de 1984 e dezembro de 1997 junto ao CIT/SC

Plantas	Registros de intoxicação (%)
comigo-ninguém-pode	210 (30,4)
nogueira ou tungue	68 (9,8)
coroa-de-cristo	38 (5,5)
eufórbia ou sangue-de-boi	34 (4,9)
pinhão-de-purga ou pinhão-paraguaio	34 (4,9)
aroeira-brava ou aroeira	25 (3,6)
mamona ou carrapateira	21 (3,0)
mandioca-brava ou mandioca	17 (2,5)
bucha ou bucha-paulista	10 (1,5)
dama-da-noite ou cartucheira	10 (1,5)
Total de casos com as dez plantas	467 (67,6)
Número total de registros	691

Observa-se que a maioria das espécies de maior relevância pelo número de intoxicações são espécies ornamentais. É de se destacar que levantamentos realizados nos Estados Unidos da América, abrangendo cerca de 900 mil casos registrados por centros de informações toxicológicas entre 1985 e 1994, apontam no mesmo sentido, indicando a predominância de intoxicações por espécies de *Philodendron* e *Dieffenbachia* (Krenzelok et al., 1996). Embora os dados aqui utilizados para selecionar as plantas de relevância toxicológica refiram-se a ocorrências na região sul, pelas características apontadas, é de se esperar que constituam também em outras regiões do país, talvez em outra ordem de frequência, as plantas de maior interesse.

O levantamento realizado permite, ainda, ilustrar a forma como ocorrem as intoxicações*. Observando-se os dados segundo a faixa etária, nota-se a pre-

* Esses dados são aqui apresentados como forma de ilustrar as ocorrências e devem ser interpretados cuidadosamente, visto que têm origem em centro de informação, no qual a notificação não é obrigatória nem mesmo seu principal objetivo.

dominância das ocorrências com crianças (até 14 anos), as quais totalizaram cerca de 65% dos registros. Em 86% dos casos, as intoxicações ocorreram de forma acidental; alguns em decorrência de atividades profissionais, ou ainda, em um número restrito de casos, de forma intencional, como droga de abuso (3%), ou mesmo tentativa de suicídio (3,5%). Quase todos os casos foram acompanhados de manifestações clínicas, sendo que em cerca de 20% dos casos foi necessária a internação hospitalar, a qual, de modo geral, foi de apenas um dia, tendo alguns casos (3,3%) requerido permanência de 2 a 5 dias.

Na tabela 2, os casos de intoxicação são relacionados segundo a via de ingestão ou contato com a planta. Observa-se número significativo de ocorrências através das vias cutânea e ocular.

TABELA 2

Intoxicações causadas por plantas no período de maio de 1984 a dezembro de 1997 junto ao CIT/SC, segundo a via de contato

Via de contato	Frequência	Percentual
Oral	504	72,9%
Cutânea	123	17,8%
Ocular	58	8,4%
Outras	6	0,9%
Total de casos	691	

Analisando os casos segundo o local de exposição, observa-se a predominância das ocorrências no meio urbano, destacando-se aí as ocorrências no ambiente domiciliar (tabela 3).

TABELA 3

Intoxicações causadas por plantas no período de maio de 1984 e dezembro de 1997 junto ao CIT/SC, segundo o local de exposição

Local de exposição	Frequência	Percentual
Urbano: residência	505	73,1
Urbano: escola	45	6,5
Urbano: local trabalho	15	2,2
Urbano: ambiente externo	55	8,0
Urbano: outros/desconhecido	15	2,1
Rural: residência	16	2,3
Rural: escola	9	1,3
Rural: local trabalho	20	2,9
Rural: ambiente externo	9	1,3
Desconhecidos	2	0,2
Total de casos	691	

6. PRINCIPAIS PLANTAS TÓXICAS

6.1. COMIGO-NINGUÉM-PODE

Nomes científicos: *Dieffenbachia picta* (DC.) Schott e *Dieffenbachia seguine* (Jacq.) Schott

Família botânica: Araceae

Ocorrência:

As duas espécies são originárias da América tropical e frequentemente cultivadas como ornamentais, principalmente na decoração de ambientes interiores devido a sua resistência à baixa luminosidade. Estão presentes em residências, escritórios e escolas.

Descrição sucinta:

Plantas perenes, de até 2 m de altura, com caule tortuoso, apresentando cicatrizes anelares resultantes da queda das bainhas das folhas mais velhas. Folhas simples, inteiras, espiraladas, glabras, com numerosas manchas amarelo-esbranquiçadas, alargadas ou lineares entre as nervuras. As folhas de *Dieffenbachia picta* apresentam manchas definidas enquanto que as de *Dieffenbachia seguine* tem manchas interligadas, ocupando grande parte da lâmina foliar. As flores são reunidas em um espádice protegido por espata, porém, em regra, essas espécies de plantas não florescem no sul do Brasil.

Toxicidade:

A natureza química das substâncias responsáveis pela toxicidade de espécies de *Dieffenbachia* ainda não foi completamente esclarecida. Essas plantas, assim como outras da família Araceae, têm como característica anatômica a presença de um grande número de idioblastos contendo cristais de oxalato de cálcio, na forma de agulhas, denominados ráfides. Esses idioblastos encontram-se em todas as partes da planta e são ejetores, isto é, têm como característica expulsar violentamente as ráfides, quando suas membranas celulares e paredes são rompidas. Nos tecidos vegetais encontram-se também quantidades apreciáveis de ácido oxálico e seus sais solúveis, os quais, segundo alguns autores, podem promover um quadro de intoxicação por oxalato.

O mecanismo da reação alérgica foi estudado experimentalmente, tendo sido demonstrado que a ação desencadeada não é apenas mecânica, mas sim mediada pela presença de substâncias de natureza lipídica constituídas de ácidos graxos insaturados que atuam como substâncias irritantes juntamente com os cristais de oxalato de cálcio (Carneiro et al., 1989).

Formas de intoxicação:

Os casos de intoxicações mais frequentes ocorrem com crianças, devido à ingestão ou contato com a mucosa oral. Os sintomas se desenvolvem rapidamente, ocorrendo irritação com sensação de queimadura, salivação intensa, edema dos lábios, língua e garganta, podendo dificultar ou impedir a fala e causar distúrbios respiratórios.

O contato com a seiva do vegetal, de forma direta ou indireta, pode provocar severa irritação da pele ou inflamação ocular, acompanhada de edema e fortes dores, as quais podem durar até algumas semanas.

Efeitos clínicos potenciais:

Os sintomas mais comuns, em caso de ingestão, são salivação e dor na boca, língua e lábios, com edema da mucosa oral. O edema pode ser tão intenso a ponto de causar um quadro de obstrução das vias respiratórias e óbito por insuficiência respiratória aguda. Algumas vezes ocorrem distúrbios gastrointestinais, com cólicas abdominais, náusea e vômitos. O contato do látex com a pele pode provocar dermatite de contato; na mucosa ocular pode provocar irritação, congestão, edema, fotofobia, lacrimejamento, com inflamação simultânea da córnea e da conjuntiva.

Tratamento:

Em primeiro lugar, deve ser assegurada a desobstrução das vias respiratórias, para evitar a asfixia. Basicamente o tratamento é sintomático e de suporte, com a administração de líquidos gelados (águas, chás, sucos) ou emolientes (leite, gelatina), para proporcionar alívio. Caso necessário, são administrados analgésicos, anti-inflamatórios e anti-histamínicos, para combater a dor e o edema. Não é recomendado fazer lavagem gástrica nem provocar vômito, devido à presença das microagulhas (ráfides).

As áreas irritadas por contato, como a pele e olhos, devem ser lavadas com grande quantidade de água corrente e a utilização de colírios antissépticos é recomendada.

Outras espécies de aráceas com potencial semelhante de intoxicação

Para algumas outras espécies da mesma família de plantas, têm sido registradas intoxicações semelhantes às descritas anteriormente, destacando-se, embora em menor número, aquelas relacionadas com cipó-imbé, costela-de-adão, jibóia e copo-de-leite. Em função do quadro toxicológico e da quimiota-xonomia, provavelmente trata-se de agente tóxico idêntico ou semelhante às espécies de *Dieffenbachia*. Essas espécies são sumariamente descritas a seguir. Toxicidade, formas de intoxicação, efeitos clínicos potenciais e tratamento são semelhantes aos descritos para comigo-ninguém-pode. Também para outras aráceas, como espécies de *Anthurium*, foram registrados casos de intoxicação.

CIPÓ-IMBÉ

Nome científico: *Philodendron bipinnatifidum* Schott ex Endl. (Araceae)

Ocorrência:

Também denominada de imbé, guaimbé, banana-imbé, *Philodendron bipinnatifidum* é espécie nativa, ocorrendo desde o Espírito Santo e Minas Gerais até o nordeste da Argentina, sendo também cultivada em jardins ou como planta de interiores.

Descrição sucinta:

Arbusto trepador ou terrestre, de caule cilíndrico, emitindo raízes que se aderem e se enrolam no suporte. Folhas alternas, longo-pecioladas, com o limbo bipinatifido e com até 1 m de comprimento e 0,6 m de largura, coriáceo, verde-brilhante na face superior e opaco na inferior. Inflorescência do tipo espádice carnosa, de até 20 cm de comprimento e 5 cm de diâmetro.

COSTELA-DE-ADÃO

Nome científico: *Monstera deliciosa* Liebm. (Araceae)

Ocorrência:

Também conhecida como imbé, *Monstera deliciosa* é originária da América Central e México, sendo cultivada como ornamental em jardins e como planta de interiores.

Descrição sucinta:

Folhas semelhantes às de *Philodendron bipinnatifidum*, diferindo por apresentar o limbo perfurado (exceto folhas jovens) e inflorescência baciforme, verde a verde clara, de 15 a 25 cm de comprimento.

JIBÓIA

Nome científico: *Scindapsus pictus* Hassk. (Araceae)

Ocorrência:

A jibóia ou jiboinha é originária de Java e Malásia, sendo cultivada como ornamental, principalmente como planta de interiores.

Descrição sucinta:

Trepadeira com raízes adventícias. Folhas alternas, simples, ovado-oblongas, glabras, de 10 a 15 cm de comprimento (em ambiente externo maiores), com manchas esbranquiçadas na face superior (em ambiente externo as manchas podem desaparecer). Flores reunidas em espádice protegida por espata, não florescendo, em regra, no sul do Brasil.

Observação:

Além desta espécie é também cultivada *Scindapsus aureus* (Linden et André) Engl. et Krause, originária das Ilhas Salomão, com folhas de até 60 cm de comprimento, base profundamente cordada e limbo apresentando linhas ou manchas irregulares amareladas.

COPO-DE-LEITE

Nome científico: *Zantedeschia aethiopica* (L.) Spreng. (Araceae)

Ocorrência:

O copo-de-leite é originário do sul da África e cultivado como ornamental, ocorrendo também como espontâneo em locais encharcados.

Descrição sucinta:

Trepadeira com raízes adventícias. Folhas alternas, simples, ovalado-

oblongas, glabras, de 10 a 15 cm de comprimento (em ambiente externo maiores), com manchas esbranquiçadas na face superior (em ambiente externo as manchas podem desaparecer). Flores reunidas em espádice protegida por espata, não florescendo, em regra, no sul do Brasil.

6.2. NOGUEIRA, TUNGUE ou CASTANHA-PURGATIVA

Nome científico: *Aleurites fordii* Hemsl.

Família botânica: Euphorbiaceae

Ocorrência:

Originária da China, é cultivada no sul do Brasil, Argentina e Paraguai.

Descrição sucinta:

Árvore de até 9 m de altura, latescente, de copa muito ramificada. Folhas simples, alternas, caducas no inverno, limbo cordiforme inteiro ou trilobado, palminérveas, longo-pecioladas, glabras ou com pêlos simples sobre as nervuras e pecíolo, com dois nectários na porção terminal do pecíolo. Flores unissexuais em plantas monóicas, aparecendo com as folhas após o inverno, reunidas em inflorescências paniculadas axilares, brancas, róseas ou avermelhadas. Flores masculinas com 8 a 10 estames e femininas com gineceu de ovário súpero. Fruto drupáceo, quando maduro com 4 a 5 cm de diâmetro.

Toxicidade:

Apresenta ésteres diterpênicos derivados do 16-hidróxi-forbol de ação irritante e co-carcinogênica (Okuda et al., 1975).

Formas de intoxicação:

As intoxicações ocorrem geralmente por ingestão das sementes, confundidas com castanhas comestíveis. É freqüente a intoxicação concomitante de um número elevado de pessoas em escolas. O CIT/SC registrou a intoxicação de 28 alunos em uma escola no município de Canoinhas (SC). Da mesma forma, são descritos casos na literatura, envolvendo dezenas de alunos (Lin et al., 1996).

Também são descritas intoxicações por utilização equivocada do óleo das sementes, como óleo comestível, o qual é utilizado na indústria de tintas e sabonetes e para impermeabilizar madeiras e ainda a ocorrência de dermatites por contato com os vapores do óleo de tungue aquecido (Frohne e Pfänder, 1983).

Efeitos clínicos potencias:

Os sintomas são náuseas, vômitos, cólicas abdominais, tenesmo e diarreia. O contato do látex com a pele ou mucosas pode provocar lesões, com formação de eritemas e pústulas, semelhantes às provocadas por outras espécies dessa família. Em casos mais graves podem ocorrer desidratação, midríase, taquicardia, taquipnéia, respiração irregular, cianose, hipertermia, lesões renais e colapso.

Tratamento:

Nas intoxicações por ingestão, a provocação do vômito e lavagem gástrica são recomendadas, seguindo-se o tratamento sintomático e de apoio.

Controle eletrolítico se faz necessário, principalmente para evitar uma insuficiência renal. Os casos graves exigem controle das funções circulatórias e respiratórias.

As dermatites são tratadas principalmente com lavagem e aplicação de antissépticos. Em casos mais graves, é recomendada a administração de corticóides ou anti-histamínicos.

6.3. COROA-DE-CRISTO

Nome científico: *Euphorbia milii* Des Moul.

Família botânica: Euphorbiaceae

Ocorrência:

A coroa-de-cristo ou martírio é originária da Ilha de Madagascar. Duas variedades são muito cultivadas no Brasil, como ornamentais e como cercas-vivas: *Euphorbia milii* Des Moul. var. *milii*, com folhas de até 7 cm de comprimento e *Euphorbia milii* var. *breoni* (L.Noisette) Ursch et Leandri, com folhas de até 15 cm de comprimento.

Descrição sucinta:

Arbusto perene, latescente, de 0,50 a 1,80 m de altura, muito ramificado, com ramos angulosos, armados de numerosos espinhos de até 2,5 cm de comprimento. Folhas alternas, simples, inteiras, caducas, obovaladas ou espatulado-obovaladas, de até 15 cm de comprimento e de 1,5 a 3,5 cm de largura, penínervias, glabras, membranosas, curto-pecioladas, verdes, concólores. Flores unissexuais, reunidas em inflorescências do tipo ciátio, com involúcro campanulado com cinco glândulas apicais vermelhas e duas brácteas reniformes, grandes, vermelhas, petalóides. Fruto cápsula tricoca, frequentemente com um carpelo desenvolvido e os outros dois atrofiados.

Toxicidade:

Das partes aéreas do vegetal foram isolados diterpenos denominados miliaminas de A a I, responsáveis pela ação irritante (Uemura e Hirata, 1973). Esse grupo de compostos foi bastante estudado em função da sua ação co-carcinogênica, ocorrendo em várias outras espécies dessa família, principalmente no gênero *Euphorbia*. A ação irritante dos compostos isolados de *Euphorbia milii* é reprodutível experimentalmente em modelos animais (Marston e Hecker, 1983).

Formas de intoxicação:

Os casos de intoxicação mais frequentes são devidos ao contato do látex com a pele e mucosas, podendo causar sérias irritações. Entre os casos registrados junto ao CIT/SC, observam-se intoxicações em adultos, em atividades de jardinagem, devido ao contato do látex com a pele, de respingos nos olhos durante a poda ou o contato da mão impregnada com os olhos. Em crianças ocorrem situações de brincadeira do tipo "tirar leite da planta" e "fazer comida".

Efeitos clínicos potenciais:

As lesões caracterizam-se inicialmente por edema e eritema, evoluindo para a formação de vesículas e pústulas, normalmente pruriginosas e doloridas. As lesões desenvolvem-se em cerca de 2 a 8 horas após o contato, evoluindo nas 12 horas seguintes; a regressão ocorre em dois a três dias sem deixar cicatrizes. O contato do látex ou dos dedos contaminados com os olhos, pode provocar conjuntivites e, em casos mais graves, cegueira temporária.

Casos de ingestão da planta são raros, provavelmente devido ao sabor desagradável e ao rápido aparecimento dos sintomas irritativos da mucosa bucal, com sensação de queimadura, edema, dor e salivação. A ingestão provoca gastroenterite severa com forte diarreia e vômitos; ocorrendo reabsorção, há dilatação da pupila, tontura, delírio com convulsões e colapso circulatório, podendo, ainda, ocorrer lesões renais. Casos fatais não são documentados. A morte de animais domésticos já foi atribuída à ingestão da planta.

Tratamento:

O tratamento é sintomático. No caso de contato com a pele, quando as medidas de higiene, como lavagem prolongada do local, forem tomadas a tempo, não ocorre o desenvolvimento de lesões sérias. No caso de formação de vesículas ou pústulas, devem ser tomadas medidas de precaução contra infecções secundárias.

Se o contato for com os olhos, após lavagem prolongada com grande quantidade de água corrente, é recomendado o uso de colírios antissépticos. Em lesões mais graves, é também aconselhado o uso de corticóides e anti-histamínicos.

Nos casos de ingestão, a lavagem gástrica é geralmente desnecessária, sendo recomendada somente se a quantidade de planta ingerida for considerável. A administração de carvão ativado e laxantes é indicada, além de analgésicos e demulcentes, como leite e óleo de oliva. Nos casos mais graves, a administração de corticóides é recomendada.

6.4. EUFÓRBIA, SANGUE-DE-BOI ou SANGÜÍNEA

Nome científico: *Euphorbia cotinifolia* L.

Família botânica: Euphorbiaceae

Ocorrência:

Originária da Amazônia, é cultivada na América do Sul como ornamental em parques, praças e ruas.

Descrição sucinta:

Árvore de médio porte, latescente, com ramos articulados nos nós. Folhas verticiladas, em regra três nos nós, caducas no inverno, simples, inteiras, ovaladas, penínervias, geralmente glabras, membranosas, com até 7 cm de comprimento e até 5 cm de largura, longo-pecioladas, verdes a avermelhadas ou até cor-de-vinho escuro. Flores unissexuais, reunidas em inflorescências

do tipo ciático, com invólucro campanulado com cinco glândulas apicais e cinco brácteas amarelo-esbranquiçadas, franjadas. Fruto cápsula tricoca.

Toxicidade:

Como a espécie anterior, apresenta diterpenos tóxicos, responsáveis pela ação irritante (Teuscher e Lindequist, 1994).

Formas de intoxicação:

Os casos conhecidos apresentam as mesmas características das intoxicações com *Euphorbia milii* e *Euphorbia pulcherrima*.

Tratamento:

O mesmo citado para *Euphorbia milii* Des Moul.

Espécie relacionada com potencial de intoxicação

FLOR-DE-PAPAGAIO ou BICO-DE-PAPAGAIO

Nome científico: *Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch

Família botânica: Euphorbiaceae

Ocorrência:

Esta espécie é também conhecida popularmente como poinsetia, folha-de-sangue, flor-de-santo-antônio, flor-de-natal e outros. É originária do México, sendo numerosas as variedades cultivadas como ornamentais em todos os continentes.

Descrição sucinta:

Arbusto a arvoreta (ou arbusto anão), latescente, de até 6 m de altura. Folhas inferiores alternas e superiores opostas ou verticiladas, simples, ovadas a ovalado-elípticas, de bordos inteiros a sinuados, de até 20 cm de comprimento e até 10 cm de largura, longo-pecioladas; pecíolo avermelhado com estípulas glandulosas. Flores unissexuais, reunidas em inflorescências do tipo ciático, invólucro urceolado com uma glândula lateral, vistosa, amarela; ciátios reunidos em cimeiras congestas, protegidos por numerosas brácteas vermelhas (ou brancas) de até 20 cm de comprimento. Frutifica raramente, originando, então, uma cápsula com uma semente.

Toxicidade:

A presença de ésteres diterpênicos de ação irritante não pôde ser comprovada nessa espécie e a toxicidade não foi reproduzida em modelos animais (Roth et al., 1988; Teuscher e Lindequist, 1994). No entanto, segundo alguns autores, o contato do látex com a pele pode provocar reação de forma semelhante à *Euphorbia milii* e a ingestão de partes do vegetal pode provocar lesões graves (Czajka e Duffy, 1983). Entretanto, outros autores e centros de informações toxicológicas, apresentam relatos sobre a ingestão do vegetal sem o desenvolvimento dos sintomas de intoxicação ou apenas o aparecimento de sintomas leves, como vômitos e diarreia (Frohne e Pfänder, 1983; Roth et al., 1988). Supõe-se que a toxicidade do vegetal seja variável com a região ou, ainda, que o cultivo dessa planta para fins ornamentais altere o seu metabolismo secundário e, conseqüentemente, a sua toxicidade.

Formas de intoxicação e tratamento:

Semelhante aos casos anteriores.

6.5. PINHÃO-DE-PURGA ou PINHÃO-PARAGUAIO

Nome científico: *Jatropha curcas* L.

Família botânica: Euphorbiaceae

Ocorrência:

Originária da América tropical e cultivada como ornamental no Brasil.

Descrição botânica:

Arbusto latescente, caducifólio, com folhas simples, de pecíolos longos e lâminas cordiformes a lobuladas, palminérveas, de 5 a 10 cm de comprimento, freqüentemente de cor vermelho-vinosa. Flores unissexuais, pentâmeras, amarelo-esverdeadas. Estames 10. Ovário tricarpelar. Fruto do tipo cápsula tricoca, de aproximadamente 3 cm de comprimento, com 3 sementes.

Toxicidade:

As sementes contêm uma proteína de ação tóxica, semelhante à ricina (ver mamona). Além disso, o óleo presente nas sementes e o látex presente nas partes aéreas da planta apresentam ação cáustica, podendo causar severa irritação na pele (Gandhi et al., 1995).

Formas de intoxicação:

As intoxicações ocorrem geralmente em crianças, pela ingestão das sementes, confundidas com castanhas de espécies comestíveis. Em adultos, as intoxicações podem ocorrer pelo uso da planta como medicinal, preconizada em algumas regiões como laxante, contra vermes e para úlcera gástrica (Villegas et al., 1997).

Efeitos clínicos potenciais:

Em intoxicações experimentais em animais, observa-se, com o óleo das sementes, diarreia severa e inflamação gastrointestinal pela ingestão e severa irritação dérmica na aplicação tópica (Gandhi et al., 1995). Nas intoxicações humanas podem ocorrer, de acordo com o número de sementes ingeridas, intensa dor abdominal, náusea, vômitos e diarreia (Schvartzman, 1992).

Tratamento:

O esvaziamento gástrico, mesmo com episódios de vômitos, é indicado, bem como hidratação adequada para evitar distúrbios hidroeletrólíticos e diminuir os riscos de complicações cardiovasculares, neurológicas e renais. Soluções antissépticas, anti-histamínicos e corticóides são eventualmente utilizados para o tratamento das lesões de pele e mucosas, provocadas pelo contato com o látex, pêlos ou espinhos.

6.6. AROEIRA-BRAVA, AROEIRA ou PAU-DE-BUGRE

Nomes científicos: *Lithraea brasiliensis* Marchand e *Lithraea molleoides* (Vell.)Engl.

Família botânica: Anacardiaceae

Ocorrência:

Também conhecidas como bugreiro, são espécies nativas, ocorrendo no Brasil, de Minas Gerais ao Rio Grande do Sul e no Paraguai, Bolívia, Argentina e Uruguai.

Descrição sucinta:

Lithraea brasiliensis é uma árvore de até 7 m de altura. Folhas alternas, simples, ovaladas a oblongo-espatuladas, coriáceas, glabras, de até 8 cm de comprimento e até 2,3 cm de largura; pecíolo com porção superior alada. Flores unissexuais em plantas díicas, tetrâmeras a hexâmeras, reunidas em panículas axilares ou terminais, as masculinas com 8 a 10 estames e as femininas com gineceu de ovário unilocular e monospermico. Fruto drupa quase esférica, com 5 a 6 mm de diâmetro, branco-esverdeada.

Lithraea molleoides difere de *Lithraea brasiliensis* por apresentar folhas compostas.

Observação:

Outras espécies chamadas de aroeira, pertencentes à mesma família, são *Schinus terebinthifolius* Raddi (aroeira-vermelha, aroeira-da-praia, aroeira-mansa) e *Schinus molle* L. (aroeira-mansa, aroeira-salso), ambas muito utilizadas em arborização de ruas e parques.

Toxicidade:

Tanto para *Lithraea brasiliensis* como para *Lithraea molleoides* foi constatada a presença de substâncias alergizantes (Ale et al., 1997), do mesmo tipo das que ocorrem em espécies do gênero *Toxicodendron* (gênero *Rhus* para alguns autores). Quimicamente, tratam-se de substâncias com núcleo catecólico e cadeia alifática, saturada ou insaturada, com 15 a 17 átomos de carbono. A toxicidade e o mecanismo de ação dessas substâncias, denominadas genericamente "urochiosis", são descritos na literatura: são extremamente lipofílicas e acumulam-se nas membranas celulares; *in vivo* são oxidadas a quinonas eletrofílicas, que se comportam como haptenos, reagindo com proteínas da pele para formar antígenos, provocando reações de hipersensibilidade. As intoxicações por espécies de *Toxicodendron* nos Estados Unidos constituem um dos principais problemas com plantas tóxicas, já que parte significativa da população é sensível (Teuscher, 1994). A investigação de reações cruzadas mostrou que a maioria dos indivíduos sensíveis a *Lithraea brasiliensis*, o é também para *Toxicodendron quercifolia* (Michx.) Greene (sinonímia: *Rhus toxicodendron* L.), e que as reações a essa última espécie são mais fortes e desencadeadas por menores concentrações de extrato; mostrou, ainda, a sensibilidade cruzada entre *Lithraea brasiliensis* e *Lithraea molleoides* (Ale et al., 1997).

Por outro lado, as reações dérmicas às espécies *Schinus terebinthifolius* e *Schinus molle*, ambas denominadas aroeira-mansa, não são tão acentuadas e os compostos tóxicos responsáveis pelas reações alérgicas são também al-

quilfenóis, mas com apenas um grupo hidroxila, não apresentando, portanto, o núcleo catecólico como os “urochios” (Stahl et al., 1983). Os frutos, de coloração rosa ou vermelha, de *Schinus molle* são também de interesse toxicológico. Apresentam sabor picante e são utilizados como um tipo especial de pimenta, podendo, no entanto, provocar, de acordo com a dose, forte irritação gástrica (Stahl, 1982). Segundo Morton (1978), crianças que ingeriram alguns frutos verdes ou maduros sofreram distúrbios gastrintestinais e vômitos e, pelo contato com os frutos em brincadeiras, podem sofrer alergias que afetam mãos, braços e rosto.

Formas de intoxicação:

As espécies de *Lithraea*, assim como várias outras espécies dessa família, são causadoras de alergias. O quadro toxicológico caracteriza-se por dermatite, apresentando eritema, pápulas e vesículas com prurido intenso. A hipersensibilização pode decorrer do contato direto da planta com a pele ou, em muitos casos, apenas pela proximidade do vegetal, devido à presença de substâncias alergizantes voláteis.

Tratamento:

A regressão do quadro toxicológico é normalmente lenta, sendo importante tomar medidas para evitar infecções secundárias. São indicados os antissépticos de ação local e, nos casos mais graves, é recomendada a administração de corticóides e anti-histamínicos.

6.7. MAMONA ou CARRAPATEIRA

Nome científico: *Ricinus communis* L.

Família botânica: Euphorbiaceae

Ocorrência:

Originária da África, é cultivada ou assilvestrada nas regiões tropicais e subtropicais do globo.

Descrição sucinta:

Arbusto muito polimorfo, anual ou perene, às vezes arborescente, alcançando até 8 m de altura nas regiões tropicais. Folhas alternas, simples, palmatilobadas, peltadas, com 5 a 11 lobos de bordos serrados, de até 60 cm de diâmetro, glabras, longo-pecioladas. Ramos cilíndricos, sólidos nas plantas jovens, ocos nas velhas, divididos em entre-nós bem marcados pela inserção das folhas. Pecíolos ocos, com dois nectários próximos ao limbo foliar. Flores unissexuais, reunidas em inflorescências do tipo cacho, as masculinas basais e femininas apicais. Flores masculinas com perigônio verde e androceu composto por estames numerosos com filetes muito ramificados. Flores femininas com perigônio caduco e gineceu de ovário trilocular. Fruto cápsula tricaça com pericarpo espinhoso ou liso, verde a avermelhado.

Toxicidade:

As sementes apresentam uma lectina altamente tóxica, denominada ri-

cina, de estrutura glicoprotéica, com propriedades de aglutinar eritrócitos (fitoaglutinina). As sementes contêm em torno de 0,2% de ricina. Outro componente tóxico, que ocorre também nas folhas, é a ricinina, uma substância de natureza alcaloídica. Além desses, é também descrita a presença de glicoproteínas de ação alergizante.

O óleo de mamona ou óleo de rícino, devido a características singulares como a alta viscosidade e estabilidade, tem amplo emprego industrial. Também é utilizado em alguns medicamentos como purgante drástico, eventualmente utilizado antes de procedimentos radiológicos. O óleo não contém ricina, que permanece na torta. A torta tem alto valor protéico e, após tratamento para eliminação da ricina, é utilizada como ração animal, ou, ainda, como adubo.

Formas de intoxicação:

Os casos mais frequentes ocorrem em crianças pela ingestão das sementes. O grau de intoxicação depende do grau de liberação da ricina, o que ocorre com a mastigação; existem relatos de ingestão de sementes inteiras sem desenvolvimento de um quadro sério de intoxicação.

O óleo da mamona ou óleo de rícino, quando preparado por leigos, pode estar contaminado com ricina, tornando-se extremamente tóxico. Além do óleo, também a torta pode causar intoxicações em animais ou em humanos que a manipulam.

Em animais de grande porte como bovinos, é relatada a intoxicação por ingestão de folhas de mamona. É citada uma dose letal de 20 g de folhas frescas por kg de peso do animal, ingeridas em curto espaço de tempo. A ingestão das folhas ocorre devido à fome, tendo sido registrada principalmente na região nordeste do Brasil, em épocas de seca (Tokarnia et al., 1979).

Efeitos clínicos potenciais:

A intoxicação por ingestão das sementes caracteriza-se inicialmente por vômitos e diarreia, evoluindo para uma gastroenterite sangüinolenta, cólicas violentas, lesões renais, distúrbios neurológicos, letargia, apnéia e coma. A ingestão de 1 a 6 sementes pode ser fatal para uma criança.

Também ocorrem manifestações alérgicas por inalação de resíduos de indústrias de beneficiamento da mamona. Tais manifestações caracterizam-se por distúrbios respiratórios, coriza, asma brônquica ou, ainda, conjuntivite, dermatites e eczemas.

Tratamento:

O tratamento deve ser rápido e enérgico, sendo recomendadas como medidas de primeiros socorros a administração de carvão ativado ou estimulação do vômito. A lavagem gástrica deve ser imediata, seguida da administração de eletrólitos, grande quantidade de líquidos, controle renal, sangüíneo e das funções hepáticas. Se necessária, transfusão sangüínea; seguir com tratamento sintomático e de apoio.

6.8. MANDIOCA-BRABA, MANDIOCA-BRAVA ou AIPIMNome científico: *Manihot esculenta* Crantz

Família botânica: Euphorbiaceae

Ocorrência:

Acredita-se que a mandioca seja originária do Paraguai e dos estados de Mato Grosso e Mato Grosso do Sul, no Brasil. Na época da colonização, o uso da mandioca já fazia parte da tradição dos índios da América do Sul, Central e México.

Descrição sucinta:

Arbusto perene, latescente, de até 4 m de altura, ramificado ou não, com caule e ramos cobertos de numerosas cicatrizes resultantes das folhas caducas; raízes tuberosas, numerosas, cilíndricas. Folhas alternas, com limbo palmatipartido com 3 a 7 lobos profundos, lanceolados, acuminados, com 8 a 17 cm de comprimento e 1 a 5 cm de largura, com a base confluyente formando um disco de uns 2 cm de diâmetro, longo-pecioladas, glabras, caducas. Flores unissexuais, reunidas em inflorescências paniculadas, compostas por em média 6 flores femininas basais e 50 flores masculinas apicais. Fruto cápsula tricoca.

Toxicidade:

A toxicidade das espécies e cultivares de *Manihot* deve-se à presença de glicosídeos cianogênicos, principalmente a linamarina, que está presente em todas as partes do vegetal, concentrando-se nas folhas e na entrecasca da raiz, especialmente no seu látex. Acredita-se que todas as variedades e cultivares de mandioca contenham glicosídeos cianogênicos, existindo variação no teor de acordo com a idade do vegetal, condições climáticas e de solo. Esses glicosídeos são instáveis, sofrendo degradação pelo calor, ação de enzimas presentes no próprio vegetal e ácidos digestivos. A sua hidrólise origina ácido cianídrico. O ácido cianídrico atua inibindo a respiração celular através de reação com o ferro trivalente da citocromo-oxidase nas mitocôndrias. O cianeto é um dos venenos de ação mais rápida, sendo a dose letal do cianeto de potássio para o homem em torno de 1 mg/kg. No entanto, a intoxicação em humanos, de modo geral, não ocorre de forma tão rápida, já que o teor de glicosídeos cianogênicos geralmente é reduzido de alguma forma pelo processamento e o organismo possui mecanismos de desintoxicação como o catalizado pela rodanese, uma enzima capaz de promover a formação de tiocianato que será então eliminado pela urina e saliva.

Formas de intoxicação:

Nos alimentos industrializados, os glicosídeos cianogênicos são eliminados pelo processamento. Na forma usual de utilização do produto não industrializado, as intoxicações ocorrem devido ao processamento inadequado, principalmente o cozimento insuficiente para eliminação dos glicosídeos

cianogênicos. É de se destacar, ainda, que no Brasil existe um grande número de espécies e variedades botanicamente muito semelhantes. Exemplos de baixa toxicidade em uma região, quando transplantados para outro ambiente, podem tornar-se tóxicos, sem que os agricultores observem diferenças nas plantas.

Outro aspecto que merece atenção é a possibilidade de intoxicação crônica, pela dieta unilateral de alimentos processados inadequadamente, causando ingestão sistemática de doses subletais de cianetos, interferindo na função da tireóide; também tem sido relatado que quantidade significativa do glicosídeo linamarina é absorvido sem modificações, interferindo em importantes sistemas enzimáticos (Kamalu, 1995; Ludolph e Spencer, 1996).

Efeitos clínicos potenciais:

As intoxicações são acompanhadas de distúrbios gastrintestinais como náuseas, vômitos, cólicas e diarreias; manifestações neurológicas como sonolência, torpor e coma, seguidas de convulsões tônicas e alterações respiratórias, como dispnéia, acúmulo de secreções, asfixia, bradipnéia, cianose e ainda alterações do ritmo cardíaco, com hipotensão, podem ser seguidos de óbito, nos casos agudos.

Tratamento:

As medidas de tratamento, nos casos de intoxicação por cianetos, devem ser tomadas rapidamente. Inicialmente, procura-se evitar ou reverter a ligação do cianeto com o ferro trivalente da citocromo-oxidase. O procedimento mais recomendado é a administração de nitritos que oxidam a hemoglobina à metaemoglobina, que competirá com a citocromo-oxidase, sendo favorecida a formação de cianometemoglobina. Os níveis de metaemoglobina devem ser controlados, eventualmente sendo necessária a administração de azul de metileno e ácido ascórbico. Administra-se inicialmente nitrito de amila por inalação (3 segundos a cada 2 minutos), enquanto é preparada uma solução de nitrito de sódio a 3% que será administrada por via intravenosa (10 ml em adultos). A seqüência do tratamento é feita com a administração de hipossulfito de sódio a 25%, também objetivando a formação de tiocianato, e hidroxocobalamina (vitamina B₁₂) que troca seu grupo hidroxila pelo cianeto livre no plasma formando cianocobalamina atóxica e o tratamento sintomático das funções respiratória e circulatória. A lavagem gástrica é recomendada após o início do tratamento específico.

6.9. BUCHA ou BUCHA-PAULISTA

Nome científico: *Luffa operculata* (L.) Cogn.

Família botânica: Cucurbitaceae

Ocorrência:

Originária da América Tropical, cultivada principalmente no nordeste e norte do Brasil, é comercializada em todo o país como medicinal.

Descrição sucinta:

Planta escandente (trepadeira) com folhas cordiforme-reniformes, com pecíolos de 2 a 8 cm de comprimento e lâmina de 10 a 12 cm de comprimento e com 3 a 5 lobos. Flores unissexuais de cor amarelo-pálido, pentâmeras. Pétalas de 8 a 10 mm de comprimento. Estames de 3 a 5. Ovário fusiforme. Fruto seco, ovóide-oblongo, marron quando seco, de interior esponjoso, com 10 costelas longitudinais e com espinhos no pericarpo.

Toxicidade:

De espécies desse gênero, especificamente de *Luffa acutangula* (L.) Roxb., *Luffa cylindrica* (L.) M.Roem. e *Luffa aegyptiaca* Mill., foram obtidas glicoproteínas com as ações inibidora da síntese protéica, embriotóxica e abortiva, demonstradas em experimentos em animais (Ngai et al. 1992; 1992a; 1993). A ingestão de chás preparados com frutos provoca cólicas abdominais, diarreia intensa e vômitos (Schvartsman, 1992).

Formas de intoxicação:

As intoxicações registradas estão relacionadas de modo geral com tentativa de aborto. Os casos registrados junto ao CIT/SC ocorreram em mulheres entre 19 a 26 anos, após a ingestão de quantidade variável do chá preparado com os frutos secos. Mais recentemente, os frutos secos estão sendo comercializados em farmácias com indicação em “rinite e sinusite”, para administração através de “inalação ou solução nasal em gotas”, recomendação de uso que traz consigo um potencial aumento dos casos de intoxicações. Segundo depoimentos de alguns usuários, esta utilização é responsável por graves irritações e hemorragias nasais. É de se ressaltar que tais produtos estão ilegalmente no mercado, declarados com “isentos de registro conforme Art. 28 – Decreto 79.094/1977”. No entanto, o processo de auto-isenção não é previsto pela legislação atual (ver capítulo “Normatização da produção e comercialização de fitoterápicos no Brasil”).

Efeitos clínicos potenciais:

São poucos os relatos na literatura, geralmente referentes a intoxicações experimentais em animais. Nos casos registrados junto ao CIT/SC foram descritos náusea, vômito, dor abdominal, cólicas e dor de cabeça.

Tratamento:

É recomendado apenas tratamento sintomático; para os distúrbios gastrintestinais, antiespasmódicos são freqüentemente utilizados.

6.10. DAMA-DA-NOITE, CARTUCHEIRA, TROMBETEIRA, SAIA-BRANCA ou BUZINA

Nome científico: *Brugmansia suaveolens* (Humb. et Bonpl. ex Willd.) Bercht. et J.Presl.

Sinonímia científica: *Datura suaveolens* Humb. et Bonpl. ex Willd.

Família botânica: Solanaceae

Ocorrência:

As espécies de *Brugmansia* da América do Sul são atualmente conhecidas apenas como plantas cultivadas, o que indica que elas acompanharam o homem durante os diversos estágios da civilização (Schultes, 1979). Provavelmente são as plantas utilizadas há mais tempo pelos índios americanos por suas propriedades psicotrópicas (Lockwood, 1979).

Descrição sucinta:

Arbusto de até 5 m de altura, glabro ou quase. Folhas alternas, inteiras, ovalado-oblongas, assimétricas na base, de margem inteira a levemente sinuada, de até 30 cm de comprimento. Flores brancas a amarelo-creme ou rosadas, pendentes, com 20 a 30 cm de comprimento. Cálice pentâmero, pentalo-bado ou menos, de sépalas desiguais, de até 11 cm de comprimento, corola infundibuliforme, com cerca de 15 cm de diâmetro na porção apical. Fruto capsular, indeiscente, fusiforme, com cerca de 10 cm de comprimento e 2 cm de largura, liso.

Toxicidade:

Assim como em outras espécies dos gêneros *Brugmansia* e *Datura* a toxicidade é devida à presença de alcalóides tropânicos em todas as partes da planta. Em *Brugmansia suaveolens*, o teor maior é de escopolamina (ca. 80%), seguido de hiosciamina. Esse teor pode variar com a idade da planta, predominando a escopolamina em plantas jovens, ocorrendo posterior acúmulo de hiosciamina.

Formas de intoxicação:

Podem ocorrer intoxicações acidentais, por ingestão de partes da planta, mas são relativamente freqüentes as intoxicações devido ao uso como alucinógeno. Foram registrados, em outras regiões, o uso como veneno em tentativas de suicídio ou crimes. Frohne e Pfänder (1983) citam registros em um laboratório estatal da Índia, com 2.728 mortes, ocorridas entre 1950 e 1965, relacionadas ao uso de espécies de *Datura*.

Efeitos clínicos potenciais:

Os efeitos são decorrentes da ação dos alcalóides tropânicos, provocando uma síndrome anticolinérgica clássica (ver capítulo "Alcalóides tropânicos"). Os casos leves de intoxicação caracterizam-se por náuseas, vômitos, dificuldades visuais e secura da boca. Nos casos mais graves os sintomas são visão borrada, fotofobia com dilatação da pupila, secura das mucosas, principalmente da boca, hipertermia, hiperemia cutânea, inquietude psicomotora, taquicardia, hipotensão ortostática, alucinações, desorientação, distúrbios respiratórios, convulsões e coma.

Tratamento:

Se o tratamento for rápido e com êxito, em 12 a 48h começam a desaparecer os sintomas agudos, persistindo o efeito midriático, que pode durar algumas semanas.

Como medidas emergenciais são recomendadas a administração de carvão ativado e provocação de vômitos; o controle das funções respiratórias, cuidados sintomáticos e de apoio seguem o tratamento. Eventualmente podem ser necessários fármacos anticolinesterásicos para reverter os efeitos anticolinérgicos.

7. OUTRAS PLANTAS DE IMPORTÂNCIA TOXICOLÓGICA

Outras plantas que podem ser consideradas importantes, pelo potencial de causar intoxicações graves, embora de ocorrências mais raras, são apresentadas a seguir na forma de tabela (tabela 4), junto com algumas plantas capazes de provocar intoxicações não tão graves, mas muito frequentes nas diversas regiões do país e sobre as quais existe um questionamento frequente. As informações apresentadas nessa tabela foram estruturadas com base na literatura apresentada ao final da tabela.

8. PREVENÇÃO DE INTOXICAÇÕES POR PLANTAS

Conforme mostrado neste capítulo, em nosso meio encontram-se muitas plantas potencialmente tóxicas e que frequentemente não são reconhecidas como tal, podendo causar problemas por ingestão ou simples contato. Para a prevenção de intoxicações é importante repassar à população, sempre que possível, o conhecimento sobre as plantas tóxicas presentes no ambiente e algumas regras gerais de conduta preventiva, apresentadas a seguir.

1. Conheça as plantas que existem em casa e arredores pelo nome e principais características. Informe-se sobre a possível toxicidade.
2. Evite plantar em jardins ou colocar em sua casa aquelas plantas que podem causar envenenamentos; antes de trazer plantas para o seu ambiente, procure informar-se sobre a sua possível toxicidade.
3. Ensine as crianças a não colocarem plantas na boca e a não utilizá-las como brinquedos (fazer comidinhas, tirar leite da planta ou brincar com sementes e frutos desconhecidos). A experiência mostra que intoxicações com crianças pequenas ocorrem na hora que precede às refeições, quando elas, com fome e brincando com plantas, podem ingeri-las.
4. Tome cuidado com as plantas que, ao serem cortadas, liberam látex; frequentemente, elas provocam forte irritação na pele. Ao podar essas plantas, evite o contato com a pele e deixá-las em qualquer local, onde possam vir a ser utilizadas por crianças.
5. Não utilize plantas ou cogumelos desconhecidos como alimentos. Já ocorreram casos graves pelo uso de plantas tóxicas como salada. Tenha atenção especial quanto às plantas frutíferas selvagens e cogumelos. Não confie em pequenos animais ou pássaros para saber se uma planta é tóxica.

Tabela 4
Outros vegetais de importância toxicológica;
informações estruturadas com base na literatura apresentada ao final da tabela

Nome popular Nome científico Família botânica	Parte tóxica e componentes ativos	Efeitos clínicos potenciais	Observações
ALAMANDA <i>Allamanda cathartica</i> L. Apocynaceae	todas as partes são consideradas de potencial toxicidade, especialmente o látex	distúrbios gastrointestinais severos, com náusea, vômitos, cólicas, diarreia	arbusto exótico, trepador, com folhas verticiladas e flores amarelas, freqüente em jardins
AZALEIA <i>Rhododendron indicum</i> (L.) Sweet Ericaceae	todas as partes são consideradas de potencial toxicidade devido à presença de diterpenos derivados do andromedano, de ação cardiotoxica	salivação, vômitos, lacrimação, rinorréia; em casos graves hipotensão, dor de cabeça, bradicardia, convulsões, coma	arbusto exótico, com flores vermelhas a brancas, ornamental em jardins
CAMBARÁ, CAMARÁ <i>Lantana camara</i> L. Verbenaceae	todas as partes são consideradas de potencial toxicidade; intoxicações foram registradas principalmente com frutos verdes e são atribuídas à presença de triterpenos hepatotóxicos, denominados lantadenos	náusea, vômitos, diarreia, letargia; fotofobia, midríase; foram relatados casos de óbitos	arbusto nativo ou cultivado como ornamental em jardins
CICUTA <i>Conium maculatum</i> L. Apiaceae	todas as partes da planta são tóxicas; a toxicidade é atribuída aos alcalóides conina e coniceína, acumuladas nas sementes	náusea, vômitos, diarreia; em casos graves fortes dores abdominais, delírio, tremor, convulsões violentas	erva com flores brancas, ocorre assilvestrada em regiões de altitude no Sul do Brasil
CHAPÉU-DE-NAPOLEÃO <i>Thevetia peruviana</i> (Pers.) K. Schum. Apocynaceae	todas as partes são consideradas de potencial toxicidade devido à presença de glicosídeos cardíacos; o látex apresenta ação caustica	náusea, vômitos, diarreia; sintomas neurológicos como desorientação e dor de cabeça; arritmias cardíacas; o látex provoca queimação na boca; o contato com a mucosa ocular causa irritação, fotofobia e congestão da conjuntiva	arvoreta exótica, com flores amarelas ou alaranjadas, ornamental em jardins

Tabela 4 (cont.)

CINAMOMO <i>Melia azedarach</i> L. Meliaceae	todas as partes são consideradas de potencial toxicidade; ocorrências registradas geralmente com frutos	irritação gastrointestinal severa com náusea, vômitos, diarreia intensa, distúrbios do SNC, ataxia, torpor, convulsões e coma	árvore exótica ou assilvestrada, comum em ruas e jardins ou freqüente na arborização urbana
ESPIRRADEIRA <i>Nerium oleander</i> L. Apocynaceae	todas as partes são consideradas de potencial toxicidade devido à presença de glicosídeos cardíacos	náusea, vômitos, diarreia; sintomas neurológicos como desorientação e dor de cabeça; arritmias cardíacas	arbusto exótico, com flores de várias cores, comum em ruas e jardins
ERVA-DE-RATO <i>Palicourea marcoviana</i> A. St.-Hil. Rubiaceae	frutos são considerados de maior toxicidade do que folhas e flores; toxicidade atribuída à presença do ácido monofluoracético	intoxicações descritas para animais; raramente para humanos; o quadro clínico é pouco claro; provável irritação gastrointestinal, hipoglicemia e distúrbios cardíacos	arbusto nativo, com flores amarelo-vermelho-arroxeadas, em matas ou pastagens, desde a Amazônia até Santa Catarina
FIGO <i>Ficus carica</i> L. Moraceae	presença de furanocumarinas, capazes de induzir fotossensibilização	queimaduras por exposição ao sol após a utilização ou manipulação de extratos da planta; intoxicações relatadas pelo uso em preparações caseiras de bronzeadores	arbusto exótico, cultivado devido aos frutos comestíveis
GIESTA <i>Spartium junceum</i> L. Fabaceae	todas as partes da planta são consideradas tóxicas por apresentarem o alcalóide citisina, de ação semelhante à nicotina	as intoxicações por ingestão da planta são relativamente benignas, predominando sintomatologia gastrointestinal	arbusto exótico, com flores amarelas, freqüente em jardins
GLICÍNIA <i>Wisteria sinensis</i> (Sims) Sweet Fabaceae	os relatos de intoxicação são raros e referem-se principalmente à ingestão de sementes por crianças; toxicidade atribuída à presença de lectinas	gastroenterite, com vômitos repetidos, dor abdominal e diarreia; de modo geral a recuperação é completa em 24 horas	planta escandente, exótica, de flores azuis, utilizada principalmente em caramanchões

Tabela 4 (cont.)

HERA <i>Hedera helix</i> L. Araliaceae	as partes aéreas e as raízes podem provocar dermatites de contato; a ação alergizante é atribuída à presença de poliacetilenos	reações dérmicas graves, em mãos, braços e, até, rosto têm sido descritas após contato frequente com a planta; toxicidade tem sido atribuída aos frutos, mas as reações dérmicas parecem constituir o risco maior	planta exótica, ornamental, que cobre o solo ou paredes
IMBIRA <i>Daphnopsis racemosa</i> Griseb. Thymelaeaceae	todas as partes da planta, especialmente entrecasca, frutos e raízes, são potencialmente tóxicas por conterem diterpenos de ação irritante	a ingestão de frutos pode causar distúrbios gastrointestinais graves; o contato com a planta pode causar reações alérgicas	arbusto nativo, com flores brancas; foi muito utilizado para a confecção de cordas
LEITEIRA, MATA-OLHO <i>Pachystroma longifolium</i> (Nees) I.M.Johnst. (= <i>P. ilicifolium</i> Muell. Arg.) Euphorbiaceae	o látex tem ação irritante	lesões cutâneas e/ou oculares após contato com o látex, provocando inflamação severa	árvore latecente, nativa em matas do Sul do Brasil, com grandes folhas com espinhos
OFICIAL-DE-SALA <i>Asclepias curassavica</i> L. Asclepiadaceae	caule e folhas produzem látex cáustico e glicosídeos cardíacos	na ingestão provoca dor e queimadura, sialorréia, dores abdominais, náusea e vômitos; alterações do ritmo cardíaco; em contato com os olhos pode provocar forte irritação e edema da córnea	erva de hábito ruderal, com flores vistosas, vermelho-alaranjadas
OLHO-DE-POMBO <i>Abrus precatorius</i> L. Fabaceae	as sementes contêm lecitina de elevada toxicidade; existem relatos de mortes com a ingestão de 1-2 sementes	gastrite grave, com vômitos, diarreia e convulsões	as sementes são utilizadas pelo seu aspecto peculiar em colares e enfeites

Tabela 4 (cont.)

MATA-CAVALO <i>Solanum capsicoides</i> All., S. <i>viarum</i> Donal, <i>S. atropurpureum</i> Schrunk, <i>S. sisymbirifolium</i> Lam. Solanaceae	neste gênero é frequente a ocorrência de glicoalcalóides esteroidais do tipo da solanina, de toxicidade comprovada para as mucosas gastrointestinais e ação hemolítica; as intoxicações mais frequentes são registradas em crianças pela ingestão dos frutos verdes	distúrbios gastrointestinais com náusea, vômitos, diarreia, cólicas abdominais; casos mais graves podem provocar febre, distúrbios circulatórios e neurológicos	subarbustos nativos e de comportamento ruderal; várias espécies do gênero são denominadas mata-cavalo
PESSEGUEIRO-BRAVO <i>Prunus sellowii</i> Koehne Rosaceae	todas as partes da planta são tóxicas, principalmente as sementes, devido ao teor em glicosídeos cianogênicos; as sementes de todas as espécies de <i>Prunus</i> devem ser consideradas potencialmente tóxicas	intoxicação típica por compostos cianogênicos (ver em <i>Manihot</i> (mandioca))	árvore nativa das florestas sul- brasileiras

LITERATURA: Roth et al., 1988; Frohne e Pfänder, H.J., 1983; Czajka e Duffy, 1983; Kingsbury, 1964; Teuscher e Lindequist, 1994; Schwartsman, 1979.

6. Não utilize plantas desconhecidas, de identidade duvidosa ou de possível toxicidade para preparar chás e outros remédios.

7. Lembre que não existem testes ou regras práticas seguras para distinguir plantas comestíveis das venenosas.

9. PRIMEIRAS MEDIDAS EM CASOS DE INTOXICAÇÕES POR PLANTAS

Algumas medidas gerais podem ser recomendadas para os casos de ocorrências de intoxicações por plantas.

1. Retirar da boca cuidadosamente o que restar da planta e lavar com bastante água.

2. Quando se tratar de irritação da pele, lavar o local afetado, prolongadamente, com água.

3. Sempre que possível, guardar partes da planta (todas possíveis: folhas, flores, frutos, sementes) para identificação através da consulta aos Centros de Informação Toxicológica ou junto a profissionais especializados, que poderão ser localizados através de consulta a Departamentos ou Institutos de Botânica nas instituições de Ensino.

4. Procurar logo orientação médica: no caso de intoxicação, o paciente deve ser levado imediatamente ao Pronto Socorro mais próximo e, sempre que possível, juntamente com a planta que o intoxicou.

10. ENDEREÇOS DOS CENTROS DE INFORMAÇÕES TOXICOLÓGICAS

• Sistema Nacional de Informações Tóxico-Farmacológicas - SINITOX

Endereço: Av. Brasil, 4365 - Prédio Haity Moussatché - sala 218

21045 - Rio de Janeiro, RJ - Brasil

Telefone: (21) 2270 0295 / 2260 5979

Fax: (21) 2260 9944 / 2270 2668

Site: www.fiocruz.br/sinitox

e-mail: sinitox@fiocruz.br

BELÉM

• Centro: Centro de Informações Toxicológicas de Belém

Endereço: Hospital Universitário João de Barros Barreto

Rua dos Mundurucus, 4487 - Guamá

66073-000 - Belém, PA - Brasil

Telefone: (91) 249 6370 / 249-2323 r: 138

Fax: Telefax: (91) 259 3748

e-mail: citbelem@yahoo.com

BELO HORIZONTE

• Centro: Serviço de Toxicologia de Minas Gerais

Endereço: Av. Professor Alfredo Balena, 400 - 1º andar - Santa Efigênia

Hospital João XXIII

30130-100 - Belo Horizonte, MG - Brasil

Telefone: (31) 3239 9308 / 3239 9223 / 3239 9224 / 3224 4000 / 3239-9201

Fax: (31) 3239-9209 e-mail: dcampolina@uol.com.br

BOTUCATU

- **Centro: Centro de Assistência Toxicológica de Botucatu**

Endereço: Instituto de Biociências

UNESP - Campus de Botucatu, Rubião Júnior

Caixa Postal 520

18618-000 - Botucatu, SP - Brasil

Telefone: (14) 820-6017 / 820-6034

Fax: (14) 820-1385

Site: www.laser.com.br/ceatox

e-mail: ceatox@laser.com.br

CAMPINA GRANDE

- **Centro: Centro de Assistência Toxicológica de Campina Grande**

Hospital Universitário Alcides Carneiro - UFPB

Endereço: Carlos Chagas, s/n - Bairro São José

58107-670 - Campina Grande, PB - Brasil

Telefone: (83) 341- 5750 R: 104

CAMPINAS

- **Centro: Centro de Controle de Intoxicações de Campinas**

Endereço: Faculdade de Ciências Médicas

Hospital das Clínicas - UNICAMP

13083-970 - Campinas, SP - Brasil

Telefone: (19) 3788 7573 / 3788 7290 celular: (19) 9771 5534

Telefax: (19) 3788 7573

e-mail: cci@fcm.unicamp.br

CAMPO GRANDE

- **Centro: Centro Integrado de Vigilância Toxicológica - CIVITOX**

Endereço: Hospital Regional de Mato Grosso do Sul Rosa Pedrossiam

Av. Engenheiro Luterio Lopes, 36 - Aero Rancho, Campo Grande-MS

790-84-180 - Campo Grande, MS - Brasil

Telefone: (67) 787 3333

Fax: (67) 345-1300

CUIABÁ

- **Centro: Centro de Informação Anti-Veneno de Mato Grosso**

Endereço: Hospital Municipal e Pronto Socorro de Cuiabá

Rua General Valle, 192 - Bairro Bandeirantes

78010-100 - Cuiabá, MT - Brasil

Telefone: (65) 617 1313

Fax: (65) 617 1308 / 612 4000 (Hospital Jardim Cuiabá)

CURITIBA**• Centro: Centro de Informações Toxicológicas de Curitiba**

Endereço: Hospital de Clínicas UFPR
Rua General Carneiro, 171, alto do XV
80060-150 - Curitiba, PR - Brasil
Telefone: (41) 363-7820 / 0800-60-150
e-mail: giselia@pr.gov.br

FLORIANÓPOLIS**• Centro: Centro de Informações Toxicológicas de Santa Catarina**

Endereço: Universidade Federal de Santa Catarina - Hospital Universitário
Bairro Trindade - Caixa postal: 476
88040-970 - Florianópolis, SC - Brasil
Telefone: (48) 331 9535 / 331 9173 - 0800 643 5252
Fax: (48) 331 9083
e-mail: cit@hu.ufsc.br

FORTALEZA**• Centro: Centro de Assistência Toxicológica de Fortaleza**

Endereço: Instituto Dr. José Frota
Rua Barão do Rio Branco, 1816 - Centro
60025-061 - Fortaleza, CE - Brasil
Telefone: (85) 255 5050 / 255 5012
Fax: (85) 255 5048
e-mail: ceatox@ijf.ce.gov.br

GOIÂNIA**• Centro: Centro de Informações Tóxico-Farmacológicas de Goiás**

Endereço: Superintendência de Vigilância Sanitária
Av. Anhanguera, 5195 - Setor Coimbra
74043-001 - Goiânia, GO - Brasil
Telefone: (62) 291 4350
Fax: (62) 291 5005

JOÃO PESSOA**• Centro: Centro de Assistência Toxicológica da Paraíba**

Endereço: Hospital Universitário Lauro Wanderley
Cidade Universitária - Campus I
58059-900 - João Pessoa, PB - Brasil
Telefone: (83) 216 7007
Fax: Telefax: (83) 224 6688
e-mail: ednilzafarias@zipmail.com.br / 9985-7087

LONDRINA**• Centro: Centro de Controle de Intoxicações de Londrina**

Endereço: Hospital Universitário Regional do Norte do Paraná
Universidade Estadual de Londrina
Av. Robert Kock, 60 - Caixa Postal 1611

86038-440 - Londrina, PR - Brasil
 Telefone: (43) 371 2244
 Fax: (43) 371 2615
 e-mail: cci@uel.br / turini@uel.br

MANAUS

- **Centro: Centro de Informações Toxicológicas de Manaus**
 Endereço: Hospital Universitário Getúlio Vargas
 Serviço de Farmácia do HUGV
 Av. Apuriná, 4 - Praça 14
 69020-170 - Manaus, AM - Brasil
 Telefone: (92) 232-8837/ 622-2065

MARÍLIA

- **Centro: Centro de Atendimento Toxicológico de Marília**
 Endereço: Hospital de Marília
 Av. Sampaio Vidal, 42
 17500-000 - Marília, SP - Brasil
 Telefone: (14) 423-2594 / 433-1744 R/1008
 Fax: (14) 433 1888 / 422 5457
 e-mail: mcshadow@terra.com.br

MARINGÁ

- **Centro: Centro de Controle de Intoxicações de Maringá**
 Endereço: Hospital Universitário Regional de Maringá
 Av. Mandacaru, 1590
 87010-370 - Maringá, PR - Brasil
 Telefone: (44) 225 8484 R: 227
 Fax: (44) 262 1131

NATAL

- **Centro: Centro de Informação Toxicológica de Natal**
 Endereço: Hospital Giselda Trigueiro
 Rua Cônego Montes, s/nº - Quintas
 59037-170 - Natal, RN - Brasil
 Telefone: (84) 232-7900
 Fax: (84) 232-7962/232-7909/ 232-79531)

NITERÓI

- **Centro: Centro de Controle de Intoxicações de Niterói**
 Endereço: Hospital Universitário Antônio Pedro
 Rua Marquês do Paraná, 303 - Centro
 Prédio Anexo do HUAP - 4º andar
 24033-900 - Niterói, RJ - Brasil
 Telefone: (21) 2717 0148 / 2620 2828 R: 218
 Fax: (21) 2717 0521

PORTO ALEGRE

- **Centro: Centro de Informações Toxicológicas do Rio Grande do Sul**

Endereço: Rua Domingos Crescêncio, 132

8º andar - Santana

90650-090 - Porto Alegre, RS - Brasil

Telefone: (51) 3223 6417 / 3223 6110 / 3217 9203 / 3223 6050 / 3223 6207 / 0800.780.200

Fax: (51) 3217 9067

Site: www.cit.rs.gov.br

e-mail: cit@pro.via-rs.com.br

PRESIDENTE PRUDENTE

- **Centro: Centro de Atendimento Toxicológico de Presidente Prudente**

Endereço: Hospital Estadual de Presidente Prudente

Av. Coronel José Soares Marcondes, 3758 - Jardim Bongiovani

19050-230 - Presidente Prudente, SP - Brasil

Telefax: (18) 231 4422

Site: www.unoeste.br/ceatox

e-mail: higa_r@terra.com.br

RECIFE

- **Centro: Centro de Assistência Toxicológica de Pernambuco**

Endereço: Hospital da Restauração - 1º andar

Fundação de Saúde Amaury de Medeiros - FUSAM

Av. Agamenon Magalhães s/nº - DERBY - Boa Vista

50000-000 - Recife, PE - Brasil

Telefone: (81) 3421 5444 R: 151 - 1555 (Pernambuco)

Fax: (81) 3421 5927

RIBEIRÃO PRETO

- **Centro: Centro de Controle de Intoxicações de Ribeirão Preto**

Endereço: Hospital da Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da USP

Av. Bernardino de Campos, 1000 - Centro

14015-130 - Ribeirão Preto, SP - Brasil

Telefone: (16) 602 1190

Telefax: (16) 610 1375

RIO DE JANEIRO

- **Centro: Centro de Controle de Intoxicações do Rio de Janeiro**

Endereço: Hospital Universitário Clementino Fraga Filho

Av. Brigadeiro Trompovsky, s/nº

UFRJ - 8º andar, sala 08E01 - Ilha do Fundão

21941-590 - Rio de Janeiro, RJ - Brasil

Telefone: (21) 2573 3244 / 2290 3344

Fax: (21) 2270 2193

SALVADOR**• Centro: Centro de Informações Anti-Veneno da Bahia - CIAVE**

Endereço: Hospital Central Roberto Santos
Rua do Saboeiro, s/nº - Cabula
41150-000 - Salvador, BA - Brasil
Telefone: (71) 387 4343 / 3864 e 0800 284 4343
Fax: Telefax: (71) 387 3414
e-mail: ciave@saude.ba.gov.br

SANTOS**• Centro: Centro de Controle de Intoxicações de Santos**

Endereço: Hospital Guilherme Álvaro
Rua Dr. Oswaldo Cruz, 197, sala 112 - Boqueirão
11045-904 - Santos, SP - Brasil
Telefone: (13) 3222 2878
Fax: (13) 3222 2654 (cci)
e-mail: alfredo@lusiada.br

SÃO JOSÉ DO RIO PRETO**• Centro: Centro de Assistência Toxicológica de São José do Rio Preto**

Endereço: Hospital de Base - Fundação Faculdade Regional de Medicina de São José do Rio Preto (FUNFARME)
Av. Brigadeiro Faria Lima, 5416 - São Pedro
15090-000 - São José do Rio Preto, SP - Brasil
Telefone: (17) 210 5000 R: 380
Fax: (17) 210 5000 R: 510

SÃO JOSÉ DOS CAMPOS**• Centro: Centro de Controle de Intoxicações de São José dos Campos**

Endereço: Hospital Municipal "Dr. José de Carvalho Florence"
Rua Saigiro Nakamura, 800 - Vila Industrial
12220-280 - São José dos Campos, SP - Brasil
Telefone: (12) 381 3400 R: 3431 / 3449
Fax: (12) 382 1232

SÃO PAULO**• Centro: Centro de Controle de Intoxicações de São Paulo**

Endereço: Hospital Municipal Dr. Artur Ribeiro de Saboya
Av. Francisco de Paula Quintanilha Ribeiro, 860
Térreo II - Jabaquara
04330-020 - São Paulo, SP - Brasil
Telefone: (11) 5011 5111 R: 250 / 251 / 252 / 253 / 254 / 0800-771- 3733
Telefax: (11) 5012399
e-mail: darcilea@uol.com.br; cci.sp@bol.com.br

SÃO PAULO**• Centro de Assistência Toxicológica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo**

Endereço: Hospital das Clínicas / Faculdade de Medicina
Av. Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, 647 - 2º andar - Pacaembu
05403-900 - São Paulo, SP - Brasil
Telefone: (11) 3069 8571 e 0800 148 110
Telefax: (11) 3088 9431
Site: www.ceatox.org.br
e-mail: ceatox@icr.hcnet.usp.br

TAUBATÉ**• Centro: Centro de Controle de Intoxicações de Taubaté**

Endereço: Fundação Universitária de Saúde de Taubaté
Universidade de Taubaté - Hospital Escola
Av. Granadeiro Guimarães, 270 - Centro
12020-130 - Taubaté, SP - Brasil
Telefone: (12) 221 3800 / 233 4422
Telefax: (12) 232 6565

VITÓRIA**• Centro: Centro de Controle de Intoxicações do Espírito Santo**

Endereço: Hospital Infantil Nossa Senhora da Glória
Alameda Mary Ubirajara, 205 - Santa Lúcia
29055-120 - Vitória, ES - Brasil
Telefone: (27) 381 2400 / 337-6432 / 9942-4326
Fax: (27) 324 1602 / 381 2402
Email: itho@terra.com.br

• ANVISA

Edifício Omega, Bl. B, 30º andar, Brasília/DF
CEP 70770-502
Fones (61) 448-10882 / 448-1088
FAX: (61) 448-1099 / 448-1224

II. LISTA DE LIVROS IMPORTANTES PARA A IDENTIFICAÇÃO DE PLANTAS RELACIONADAS COM INTOXICAÇÕES

- AMORIN, J. L. *Plantas de la flora argentina relacionadas con alucinógenos americanos*. Buenos Aires: A. A. F. B., 1974. n. 21.
- BRUNETON, J. *Toxic plants, dangerous to humans and animals*. Paris: Tec & Doc/ Intercept, 1999. 545p.
- CALLAHAN, R. *Plant poisonings*. New Jersey: MMI/R 30:65, 1981.
- CZAJKA, P.A.; DUFFY, J.P. *Urgencias por intoxicación*. Barcelona: Salvat, 1983. 146p.
- DUKE, J. *CRC Handbook of medicinal herbs*. Boca Raton: CRC, 1985. 677p.
- ELLENHORN, M. J.; BARCELOUX, D. G. *Medical toxicology: diagnosis and treatment of human poisoning*. 2.ed. New York: Williams & Wilkins, 1997. 2047 p.

- FROHNE, D.; PFÄNDER, H. J. *Giftpflanzen - Ein Handbuch für Apotheker, Ärzte, Toxikologen und Biologen*. Stuttgart: Wissenschaftliche, 1983. 290p.
- GALLO, G.G. *Plantas tóxicas para el ganado en el cono sur de America*. Buenos Aires: Hemisferio Sur, 1987. 213p.
- HARDIN, J. W.; ARENA, J. M. *Human poisoning from native and cultivated plants*. Durham: Duke University, 1974.
- KINGSBURY, J. M. *Poisonous plants of the United States and Canada*. New Jersey: Prentice-Hall, 1964. 626p.
- LAMPE, K. F.; FAGERSTROM, R. *Plant toxicity and dermatitis*. New York: Williams & Wilkins, 1968.
- MÉNDEZ, M.C.; RIET-CORREA, F. *Plantas tóxicas e micotoxícoses*. Pelotas: Editora Universitária e Laboratório Regional de Diagnóstico/UFPel, 2000. 112p.
- MITCHEL, J.; ROOK, A. *Botanical dermatology - plants and plant products injurious to the skin*. Vancouver: Greenglass, 1979.
- PRONCZUK, J.; LABORDE, A. *Plantas silvestres y de cultivo - riesgo de intoxicación para el hombre*. Montevideo: Universidad de la Republica, 1988. 108p.
- RIET-CORREA F.; MÉNDEZ, M. C.; SCHILD, A. L. *Intoxicações por plantas e micotoxícoses em animais domésticos*. Pelotas: Hemisfério Sul do Brasil, 1993. 340p.
- ROTH, L.; DAUNDARER, M.; KORMAN, K. *Giftpflanzen-Pflanzengifte*. 3. Aufl., Landsberg: Ecomed, 1988. 1119p.
- SCAVONE, O.; PANIZZA, S. *Plantas tóxicas*. 2.ed., São Paulo: CODAC-USP, 1981. 128p.
- SCHVARTSMAN, S. *Plantas venenosas e animais peçonhentos*. 2.ed. São Paulo: Sarvier, 1992. 288p.
- TEUSCHER, E.; LINDEQUIST, U. *Biogene Gifte*. Stuttgart: Fischer, 1994. 681p.
- TOKARNIA, C.H.; DOBEREINER, J.; PEIXOTO, P.V. *Plantas tóxicas do Brasil*. Rio de Janeiro: Helianthus, 2000. 320p.

12. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALE, S.I.; FERREIRA, F.; GONZALEZ, G.; EPSTEIN, W. Allergic contact dermatitis caused by *Lithraea molleoides* and *Lithraea brasiliensis*: identification and characterization of the responsible allergens. *Am. J. Contact Dermat.*, v. 8, n. 3, p. 144-149, 1997.
- CARNEIRO, C.M.T.S.; NEVES, L.J.; PEREIRA, E.F.R.; PEREIRA, N.A. Mecanismo tóxico de Comigo Ninguém Pode, *Dieffenbachia picta* Schott, Araceae. *Rev. Bras. Farm.*, v. 70, n. 1, p. 11-13, 1989.
- CZAJKA, P.A.; DUFFY, J.P. *Urgências por intoxicação*. Barcelona: Salvat, 1983. 146p.
- GANDHI, V.M.; CHERIAN, K.M.; MULKY, M.J. Toxicological studies on ratanjyot oil. *Food Chem. Toxicol.*, v. 33, n. 1, p. 39-42, 1995.
- FROHNE, D.; PFÄNDER, H.J. *Giftpflanzen - Ein Handbuch Apotheker, Ärzte, Toxikologen und Biologen*. Stuttgart: Wissenschaftliche, 1983. 290p.
- HOEHNE, F.C. *Plantas e substâncias vegetais tóxicas e medicinais*. São Paulo: Graphicars, 1939. 355p.
- KAMALU, B.P. The adverse effects of long-term cassia (*Manihot esculenta* Cranz) consumption. *Int. J. Food Sci. Nutr.*, v. 46, n. 1, p. 65-93, 1995.
- KINGSBURY, J.M. *Poisonous plants of the United States and Canada*. New Jersey: Prentice-Hall, 1964. 626p.

- KRENZELOK, E.P.; JACOBSEN, T.D.; ARONIS, J.M. Plant exposures: state profile of the most common species. *Vet. Hum. Toxicol.*, v. 38, p. 289-298, 1996.
- LIN, T.J.; HSU, C.I.; LEE, K.H.; SHIU, L.I.; DENG, J.F. Two outbreaks of acute Tung Nut (*Aleurites fordii*) poisoning. *J. Toxicol. Clin. Toxicol.*, v. 34, n. 1, p. 87-92, 1996.
- LOCKWOOD, T.E. The ethnobotany of *Brugmansia*. *J. Ethnopharmacol.*, v. 1, p. 147-164, 1979.
- LUDOLPH, A.C.; SPENCER, P.S. Toxic models of upper motor neuron disease. *J. Neuro. Sci.*, v. 139, n. 53, p. 9, 1996.
- MARSTON, A.; HECKER, E. On the active principles of the Euphorbiaceae VI: Isolation and Biological Activities of Seven Milliamines from *Euphorbia millii*. *Planta Medica*, v. 47, p. 141-147, 1983.
- MÉNDEZ, M.C.; RIET-CORREA, F. *Plantas tóxicas e micotoxícoses*. Pelotas: Editora Universitária e Laboratório Regional de Diagnóstico/UFPel, 2000. 112p.
- MORTON, J.F. Brazilian pepper - its impact on people, animals and the environment. *Economic Bot.*, v. 32, n. 4, p. 353-359, 1978.
- NGAI, T.B.; CHAN, W.Y.; YEUNG, H.W. Proteins with abortifacient, ribosome-inactivating, immunomodulatory, antitumor and anti-AIDS activities from Cucurbitaceae plants. *Gen. Pharmacol.*, v. 23, p. 579-590, 1992.
- NGAI, T.B.; WONG, R.N.; YEUNG, H.W. Two proteins with ribosome-inactivating, cytotoxic and abortifacient activities from seeds of *Luffa cylindrica* Roem. (Cucurbitaceae). *Biochim. Int.*, v. 27, p. 197-207, 1992a.
- NGAI, T.B.; CHAN, W.Y.; YEUNG, H.W. The ribosome-inactivating, antiproliferative and teratogenic activities and immunoreactivities of a protein from seeds of *Luffa aegyptiaca* (Cucurbitaceae). *Gen. Pharmacol.*, v. 24, n. 3, p. 655-658, 1993.
- OKUDA, T.; YOSHIDA, T.; KOIKE, S.; TOH, N. New diterpene esters from *Aleurites fordii* fruits. *Phytochemistry*, v. 14, p. 509-515, 1975.
- RIET-CORREA, F.; MÉNDEZ, M.C.; SCHILD, A.L. *Intoxicações por plantas e micotoxícoses em animais domésticos*. Pelotas: Hemisfério Sul do Brasil, 1993. 340p.
- ROTH, L.; DAUNDARER, M.; KORMAN, K. *Giftpflanzen-Pflanzengifte*, 3. Aufl. Landsberg: Ecomed, 1988. 1119p.
- SCHVARTSMAN, S. *Plantas venenosas*. São Paulo: Sarvier, 1979. 176p.
- SCHVARTSMAN, S. *Plantas venenosas e animais peçonhentos*. 2.ed. São Paulo: Sarvier, 1992. 288 p.
- SCHULTES, R.E. Solanaceous hallucinogens and their role in the development of New World cultures. In: HAWKES, J.G.; LESTER, R.N.; SKELDING, A.D. *The biology and taxonomy of the Solanaceae*. London: Academic (Linnean Society Symposium Series, 7), 1979. p. 137-160.
- STAHL, E. Rosa Pfeffer, ein gefährliches exotisches Gewürz? *Dtsch. Apoth. Ztg.*, v. 122, n. 7, p. 337-340, 1982.
- STAHL, E.; KELLER, K.; BLINN, C. Cardanol, a Skin Irritant in Pink Pepper. *Planta Medica*, v. 48, p. 5, 1983.
- TEUSCHER, E.; LINDEQUIST, U. *Biogene Gifte*. Stuttgart: Fischer, 1994. 681p.
- TOKARNIA, C.H.; DÖBEREINER, J.; SILVA, M.F. *Plantas tóxicas da Amazônia*. Manaus: INPA, 1979. 95p.
- TOKARNIA, C.H.; DÖBEREINER, J.; PELXOTO, P.V. *Plantas tóxicas do Brasil*. Rio de Janeiro: Helianthus, 2000. 320p.
- UEMURA, D.; HIRATA, Y. Isolation and structures of irritant substances obtained

from *Euphorbia* species (EUPHORBIACEAE). *Tetrahedron Lett.*, v. 11, p. 881-884, 1973.

VILLEGAS, L.F.; FERNANDEZ, I.D.; MALDONALDO, H.; TORRES, R.; ZAVALETA, A. VEISBERG, A.J.; HAMMOND, G.B. Evaluation of the wound-healing activity of selected traditional medicinal plants from Peru. *J. Ethnopharmacol.*, v. 55, n. 3, p. 193-200, 1997.

PRODUCTOS NATURALES DE ORIGEN MARINO

AUTOR

Jorge Alejandro Palermo

SUMARIO DO CAPÍTULO

1. Introducción
2. Productos marinos bioactivos
3. *Phyla* de mayor interés biomédico
4. Algas marinas
5. Esponjas
6. Celenterados
7. Bryozos
8. Tunicados
9. Equinodermos
10. Moluscos
11. Bibliografía
12. Lecturas sugeridas

1. INTRODUCCIÓN

Todas las formas vivientes de la actualidad evolucionaron a partir del medio marino, el cual posee una inmensa biodiversidad. Dejando de lado los vertebrados y los microorganismos, existen más de 150.000 especies informadas de algas e invertebrados. Esta cifra es claramente una subestimación del valor real, ya que aún en las regiones más estudiadas se considera que las especies descritas no superan el 80% de las existentes, y en otras regiones del mundo esta cifra es considerablemente menor.

Los organismos bentónicos, es decir los que se encuentran asentados sobre un sustrato sólido deben competir por el espacio, la luz y los nutrientes. Al mismo tiempo deben defenderse de otros organismos predadores y de la colonización por otras especies competitivas o microorganismos patógenos. En muchos casos, deben lograr este objetivo sin contar con defensas físicas o posibilidades de escape, y sin sistema inmunológico. Por lo tanto, estos organismos deben biosintetizar o incorporar con la dieta metabolitos secundarios que actúen como mecanismos químicos de defensa, tal como ocurre con las plantas terrestres. Independientemente de la función que brinden al organismo en su ambiente natural, estos compuestos suelen tener además actividad farmacológica de interés, como por ejemplo actividad antibiótica, antiviral o antitumoral. Si consideramos que dos tercios de la superficie terrestre esta

cubierta por mares, se abre un gran potencial para el descubrimiento de nuevas drogas farmacéuticas.

Sin embargo, comparando con el estudio de plantas terrestres, cuya tradición o uso proviene desde la antigüedad, se puede decir que el estudio de los productos naturales marinos es relativamente reciente, y su origen puede determinarse en la década de 1950. Esto se debe entre otras causas, a la popularización del buceo y al desarrollo de técnicas espectroscópicas que permitieron la elucidación estructural de moléculas increíblemente complejas.

El trabajo con productos naturales marinos tiene ciertas características que lo diferencian del trabajo con plantas terrestres. Para empezar, desde el punto de vista farmacológico, prácticamente no existe información sobre el uso de extractos de organismos marinos en medicina tradicional, con lo cual todo screening farmacológico se hace prácticamente al azar.

Una característica notable de los productos naturales marinos, y que los vuelve potencialmente interesantes para su estudio, es que son estructuralmente muy diferentes a los metabolitos secundarios aislados de fuentes terrestres. Es relativamente frecuente encontrar compuestos con esqueletos carbonados novedosos y combinaciones de grupos funcionales poco habituales en productos naturales de origen terrestre. Aún en los casos en que se encuentran compuestos de esqueleto carbonado conocido, éstos suelen ser nuevos.

Muchos organismos marinos contienen un elevado número de microorganismos simbioses: algas, bacterias y hongos. En algunos casos, estos microorganismos pueden intervenir directamente en la producción de los metabolitos secundarios, ya sea biosintetizándolos ellos mismos *per se*, o en combinación con el organismo hospedante en una relación auténticamente simbiótica.

En algunos *phylla*, por ejemplo moluscos, es frecuente encontrar compuestos de origen dietario provenientes de esponjas, algas o celenterados, ya sea con su estructura original, o modificados químicamente por el predador. En esos casos el compuesto transmitido por la cadena trófica suele cumplir un rol ecológico, generalmente de defensa, para el organismo predador.

Puede existir mucha variabilidad en la composición química de una misma especie colectada en diferentes lugares o a diferente profundidad. Esta variabilidad puede deberse a respuesta frente a diferentes factores ecológicos o a diferente composición de la flora microbiana simbiote. Por todo lo expuesto, la quimiotaxonomía, si bien siempre representa una ayuda, en ciertos *phylla* es mucho menos importante de lo que es en el estudio de las plantas terrestres: en muchos casos la taxonomía representa una de las últimas etapas del trabajo en lugar de la primera.

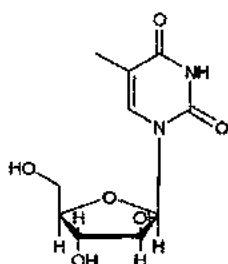
Por las condiciones particulares de las técnicas y los lugares de obtención de muestras, una recolección posterior de las mismas no es siempre factible. Además, es posible que una misma especie colectada en lugares o épocas diferentes, no produzca los mismos compuestos. Por eso se debe consi-

derar cada extracto como una muestra única, teniendo en cuenta que no siempre será posible repetir los procedimientos y resultados.

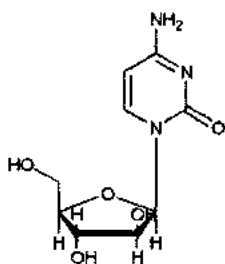
La maricultura de ciertos invertebrados marinos, especialmente los de crecimiento lento como las esponjas, es sumamente dificultosa. Además, por lo expuesto precedentemente, es posible que una esponja cultivada fuera de su ambiente natural no produzca los compuestos bioactivos de interés. Por lo tanto, ya que la cosecha de invertebrados a gran escala no es una alternativa química y ecológicamente viable, la síntesis de los compuestos activos representa al día de hoy la única opción para poder contar con los mismos en cantidades comerciales.

En varios de los *phylla* más interesantes, como las esponjas y los tunicados, el porcentaje de muestras químicamente ricas o con actividad farmacológica es relativamente bajo (menos del 10%). Sin embargo este bajo índice de riqueza química está ampliamente compensado por la variedad y novedad estructural de los compuestos aislados, lo cual es uno de los factores de éxito en cualquier programa de screening farmacológico.

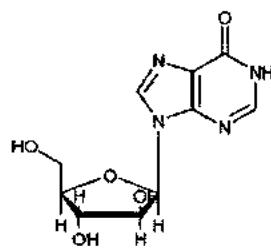
Se podría decir que la historia de los productos naturales marinos comienza recién en el año 1950 con el aislamiento no buscado de los arabinosil-nucleósidos spongotimidina (1) y spongouridina (2) (Bergmann y Burke, 1955) a partir de la esponja *Tethya crypta*. Este descubrimiento accidental dio origen a fines de los años 50 y principios de los 60 a un estudio más profundo de los nucleósidos de esponjas, y a la evaluación de las propiedades farmacológicas de estos compuestos. Esto finalmente desembocó en la síntesis del Ara-C y el Ara-A (3), y el lanzamiento al mercado de este último en 1980. Ambos compuestos se encuentran actualmente en uso como drogas antivirales (contra el herpes) y antitumorales (el Ara C posee actividad antileucémica y linfoma). La acción del Ara-C proviene de su conversión al trifosfato, incorporación al ADN celular e inhibición subsecuente de la enzima DNA polimerasa.



spongotimidina (1)



spongouridina (2)

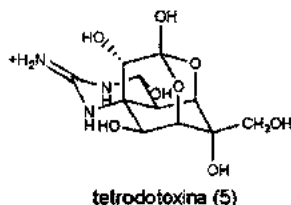
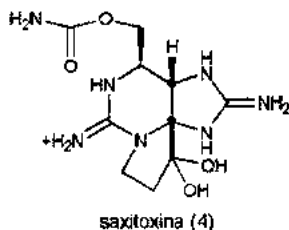


Ara-A (3)

La década de los 60 marcó el auge del estudio de las toxinas de origen marino. Estas toxinas, debido a su potencia y a las frecuentes intoxicaciones de origen alimentario que provocaban, atrajeron el interés de los químicos,

aún cuando la complejidad estructural de las mismas estaba fuera del alcance de las técnicas espectroscópicas de ese entonces. Esto, sumado al hecho de que normalmente se las detectaba a nivel de trazas, hizo que la identificación de los compuestos activos demorara en algunos casos más de 20 años.

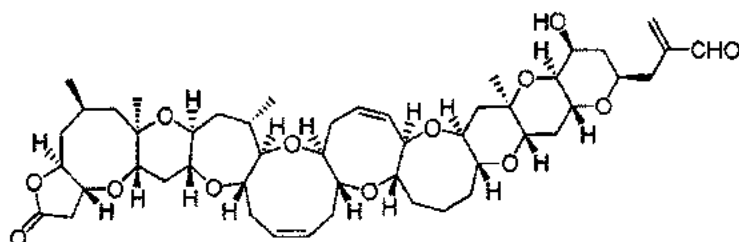
Las toxinas responsables de las intoxicaciones masivas por ingestión de moluscos bivalvos (PSP), son moléculas pequeñas pero extremadamente complejas en su estructura. La saxitoxina (4) fue la primera en ser aislada en el año 1957, pero su estructura recién pudo ser elucidada por espectroscopía de difracción de rayos X en 1975. Si bien el fenómeno de la toxicidad estacional de bivalvos se conocía de antaño, no se sabía con certeza el origen de la toxina. En el año 1937, algunos investigadores asociaron esta toxicidad con las eclosiones del dinoflagelado *Gonyaulax catenella*, aunque la producción de la toxina por un cultivo del dinoflagelado recién pudo ser confirmada en 1965. Luego se comprobó que los dinoflagelados producen en general una mezcla de toxinas, y que en realidad son numerosas las especies que los producen.



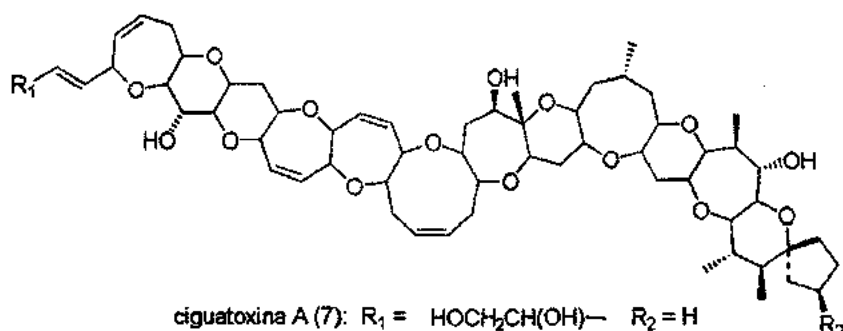
La tetrodotoxina (5) es conocida desde hace muchos años como la toxina responsable de la toxicidad del pez globo ("fugu"). Sin embargo estudios recientes han demostrado que su origen es microbiano (una variedad de bacterias marinas unicelulares).

Tanto la tetrodotoxina como la saxitoxina actúan como bloqueadores selectivos de los canales de sodio. De hecho los estudios farmacológicos con estas toxinas sirvieron para desarrollar el concepto de los canales de sodio en particular y de los canales de membrana en general. Estos compuestos bloquean los canales de sodio, interactuando solamente en la superficie exterior del canal, interrumpiendo el flujo de iones. Estas toxinas demostraron ser herramientas invaluable para estudios de neurofisiología y neurofarmacología (Cai y Jordan, 1990).

Otro tipo estructural de toxinas producidas por dinoflagelados son los políéters cíclicos, moléculas de mayor tamaño que las anteriores y de estructura totalmente diferente, que actúan también bloqueando canales iónicos. Estas toxinas son responsables de una variedad de efectos, como ictiotoxicidad, depresión de las funciones cardíaca y respiratoria, contracciones, espasmos y muerte, todos ellos relacionados con los canales de sodio.



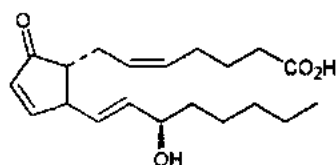
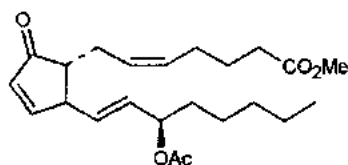
brevetoxina A (6)



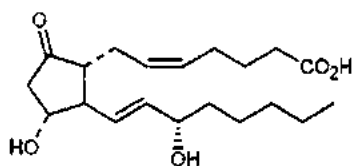
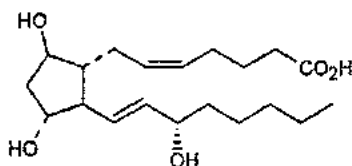
Entre las toxinas más famosas de esta clase encontramos las brevetoxinas (ej. 6), producidas por el dinoflagelado *Gymnodinium breve* (Shimizu et al., 1986), responsable de mareas rojas en el golfo de México, la ciguatera (7) (Murata et al., 1989) y la maitotoxina, ambas producidas por *Gambierdiscus toxicus*. Estas dos últimas son responsables de la ciguatera, intoxicación por consumo de ciertos peces en áreas tropicales. Las toxinas, producidas por el dinoflagelado, son transmitidas a través de la cadena trófica hasta los peces “cazadores”, los cuales si son consumidos producen intoxicación. La ciguatera es también ionotrópica y despolariza membranas, pero los síntomas y los sitios de acción de esta toxina son más diversos. La maitotoxina a su vez interactúa con los canales de calcio.

El aislamiento de prostaglandinas a partir de la gorgonia caribeña *Plexaura homomalla* (más de 1 % en peso seco de 15-*epi*-PGA (8) y el acetato de su éster metílico (9)), en el año 1969 (Weinheimer y Spraggins, 1969) fue un descubrimiento de enorme valor en ese entonces. Ya se conocía para esa época que las prostaglandinas eran sustancias muy importantes en una serie de funciones biológicas. Sin embargo, la investigación del potencial biomédico de estos compuestos estaba frenada por la escasez de sustancia disponible en el caso de los compuestos más activos, PGE_2 (10) y $\text{PGF}_{2\alpha}$ (11), los cuales

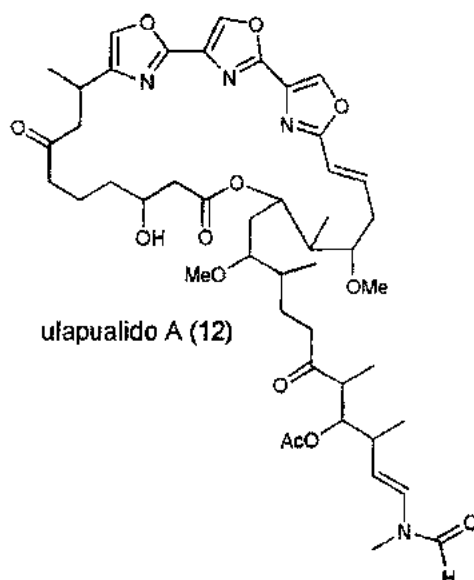
solo podían ser aislados a nivel de trazas de las fuentes naturales hasta ese momento. El descubrimiento de los compuestos (8) y (9) en cantidad importante en corales permitió el desarrollo de métodos sintéticos para transformarlos en los compuestos activos (10) y (11), y brindó nuevo impulso a las investigaciones sobre la actividad biológica de las prostaglandinas. Afortunadamente el desarrollo de rutas de síntesis total de prostaglandinas resolvió definitivamente el problema de abastecimiento de estas sustancias antes de que se produjera un daño ecológico irreparable en los arrecifes de coral, debido a la cosecha indiscriminada de *Plexaura*.

15-*epi*-PGA₂ (8)

(9)

PGE₂(10)PGF_{2α}(11)

Con la popularización del buceo, fue posible la observación en el ámbito marino de hechos ecológicamente "extraños", como por ejemplo la ausencia de predación sobre ciertos organismos muy vistosos, lo cual en muchos casos dio la pista para el descubrimiento de sustancias bioactivas. Un ejemplo de esto son las masas gelatinosas de huevos del nudibranquio *Hexabranchus sanguineus* (bailarina española). Estas masas de huevos de un color rojo intenso llamaban la atención ya que no sufrían predación. El análisis de estas masas de huevos permitió el aislamiento de una serie de compuestos macrocíclicos, llamados ulapualidos (ej. 12) (Roesener y Scheuer, 1986), kabiramidias y halichondriamidias que poseen citotoxicidad y actividad antibiótica y se cree que sirven de defensa química.



El descubrimiento del potencial biomédico de los productos naturales marinos, junto a su novedad estructural y al desarrollo de bioensayos *in vitro* permitió el screening de un número cada vez mayor de muestras e impulsó un desarrollo de numerosos grupos de investigación en todo el mundo, y la implementación de proyectos de muestreo y análisis de organismos marinos en la industria farmacéutica y en instituciones estatales. Al día de hoy se han descubierto más de 7000 compuestos novedosos de origen marino.

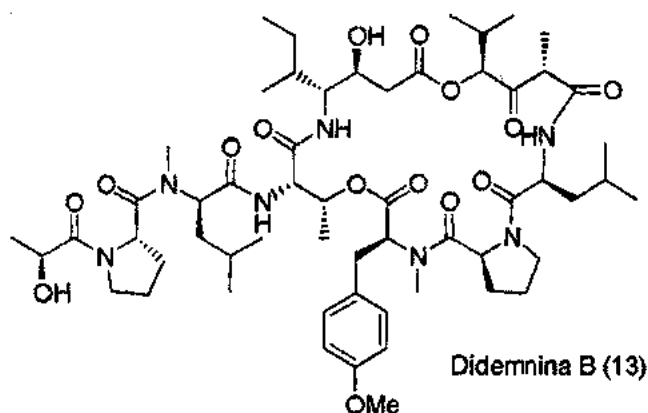
2. PRODUCTOS MARINOS BIOACTIVOS

Compuestos antitumorales:

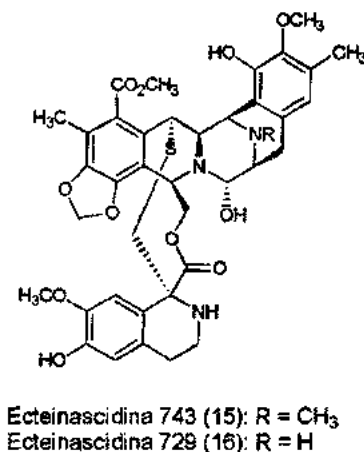
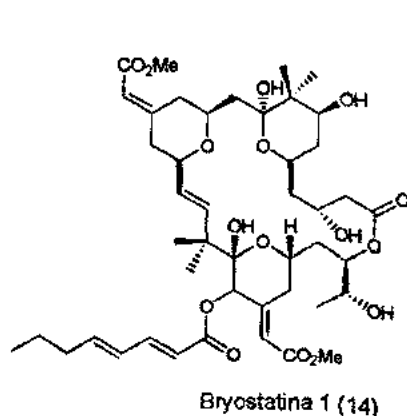
Si bien son muchos los productos naturales marinos que muestran actividad antitumoral *in vitro*, son relativamente pocos los que han llegado a fase clínica. En muchos casos el desarrollo se vió frenado por no disponerse de suficiente cantidad de muestra para ensayos *in vivo* o clínicos. Como consecuencia de esto, la síntesis de los compuestos resultó en muchos casos la única posibilidad de continuar el desarrollo de los mismos. Debido a la complejidad estructural de los compuestos, aún por la vía sintética, resulta difícil producir las cantidades requeridas de sustancia para los ensayos *in vivo*.

El primer compuesto de origen marino en llegar a fase II fue la didemina B (13) uno de los depsipéptidos cíclicos aislados del tunicado *Trididemnum solidum* (Rinehart et al., 1981). El compuesto lamentablemente fracasó

en la fase II debido a su hepatotoxicidad, pero algunos análogos sintéticos continúan con buenas perspectivas.

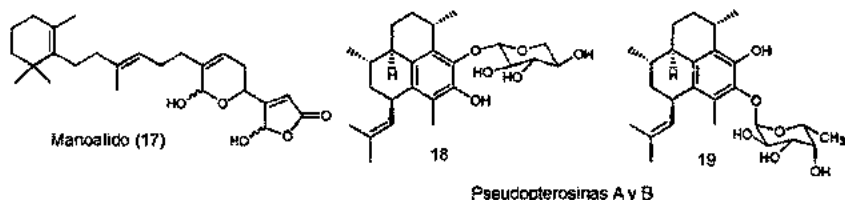


Otros dos productos marinos que se encuentran actualmente en fase II son la bryostatina I (14), del bryozoo *Bugula neritina*, (Petit et al., 1982) y las ecteinascidinas (15,16) del tunicado *Ecteinascidia turbinata* (Rinehart et al., 1990).



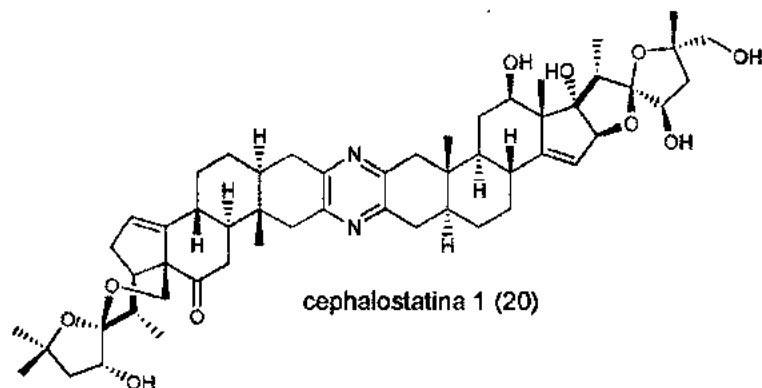
Compuestos con Actividad Antiinflamatoria:

Existen varios compuestos patentados como antiinflamatorios, como por ejemplo el manoalido (17) (manoalide) aislado de la esponja *Luffariela sp.* (de Silva y Scheuer, 1980) y las pseudopterosinas (18, 19), del octocoral *Pseudopteroorgia bipinata* (Look et al. 1986).



3. PHYLLA DE MAYOR INTERÉS BIOMÉDICO

Dentro de los organismos macroscópicos, no todos presentan la misma incidencia de bioactividad en sus extractos o de producción de metabolitos secundarios. Teniendo en cuenta solamente estos dos factores, los *phylla* que revisten mayor interés farmacológico son: algas, esponjas, tunicados, celenterados, bryozoos, moluscos y equinodermos. Esta lista no hace más que reflejar el número de publicaciones al respecto, e intervienen en ella otros factores como la abundancia o facilidad de recolección de las muestras, y no implica que de otros *phylla* no sea posible aislar compuestos bioactivos. De hecho, unos de los compuestos antitumorales más promisorios, las cephalostatinas (ej. 20), fueron aisladas del gusano marino *Cephalodiscus gilchristi* (Petit et al., 1988).



Además hemos dejado intencionalmente de lado a los microorganismos de origen marino, una de las áreas de exploración biomédica más novedosa y fructífera, pero que por sus diferencias de metodología merece ser tratada aparte.

En las siguientes secciones veremos qué tipo de compuestos se suele encontrar en cada *phyllo*, sin pretender hacer un tratado abarcativo del tema.

4. ALGAS MARINAS

Dentro del área de los productos naturales marinos, las algas (excepto las cianófitas) son los organismos más predecibles desde el punto de vista quimiotaxonómico. El hecho de ser plantas marinas llevó a que fueran muy estudiadas en las primeras épocas de la disciplina (décadas del 60 y 70), sobre todo desde una óptica "fitoquímica", permitiendo el aislamiento de cientos de compuestos novedosos, a muchos de los cuales jamás se les han realizado ensayos de bioactividad. Con el paso del tiempo, y a medida que se iban extendiendo los estudios a diferentes géneros y especies, fue evidente que dentro de las diferentes clases de algas macroscópicas, solo ciertas familias y géneros producían metabolitos secundarios.

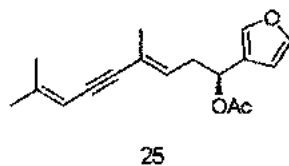
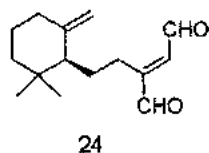
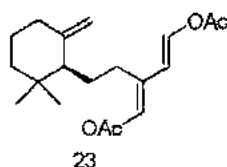
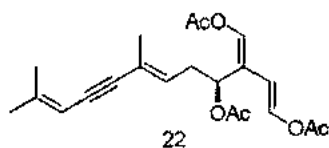
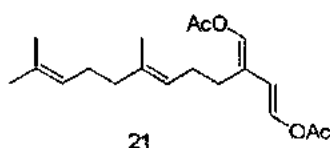
Entre las algas marinas macroscópicas productoras de metabolitos secundarios encontramos: algas rojas (Rodophyceae), algas pardas (Phaeophyceae), algas verdes (Chlorophyceae) y algas azul-verdosas (Cyanophyceae). Estas últimas guardan mucha semejanza con las especies de agua dulce y no serán tratadas en este capítulo.

Algas Verdes

En áreas de elevada productividad de algas (mares templados y fríos), los estudios químicos en algas verdes no revelaron en general la presencia de metabolitos secundarios. En contraste, en aguas tropicales, especies de ciertas familias son capaces de producir algunos compuestos característicos biológicamente activos y relacionados con la defensa química de las algas frente a herbívoros. De hecho la ausencia de predación en ambientes poblados de peces y crustáceos herbívoros llamó la atención de los químicos y biólogos. Muchos de los compuestos aislados de algas verdes son ictiotóxicos y poseen actividad anti-predatoria. Es notable que varias especies productoras de estos metabolitos sean también calcáreas, lo cual constituye una rareza, ya que en general defensas químicas y físicas no suelen coexistir. Esto indicaría que las partes calcáreas de estas algas ofrecen poca defensa frente a ciertos herbívoros.

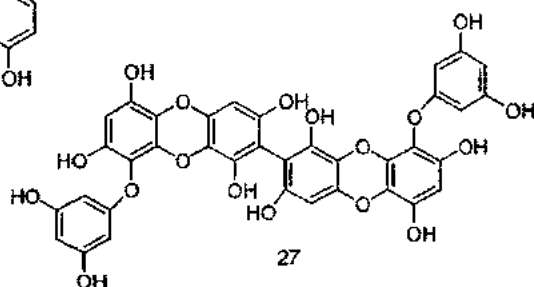
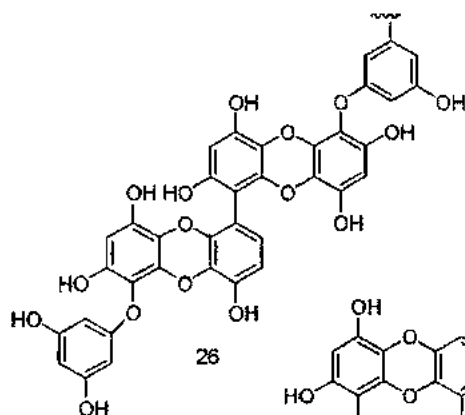
Las especies químicamente ricas de algas verdes pertenecen en general a tres familias típicas de aguas tropicales: Caulerpaceae, Udoteaceae y Dasycladaceae. Las dos primeras familias (en particular los géneros *Caulerpa*, *Udotea*, *Chlorodesmis* y *Rhipocephalus*) producen generalmente terpenoides (sesqui- o diterpenoides), muchas veces con grupos funcionales caracte-

rísticos y muy reactivos como aldehidos, bis-enolacetatos y furanos (21-25). El grupo bis-enolacetato es de hecho un 1,4 –dialdehido enmascarado, de allí su elevada reactividad química y bioactividad. Por otra parte las Dasyclada-ceas suelen producir sesqui- y diterpenos fenólicos.

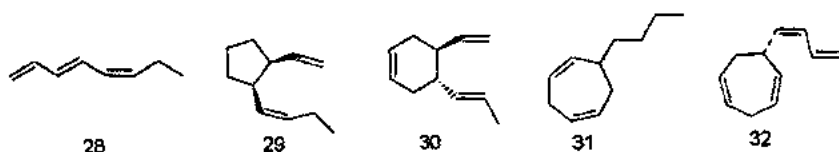


Algas Pardas

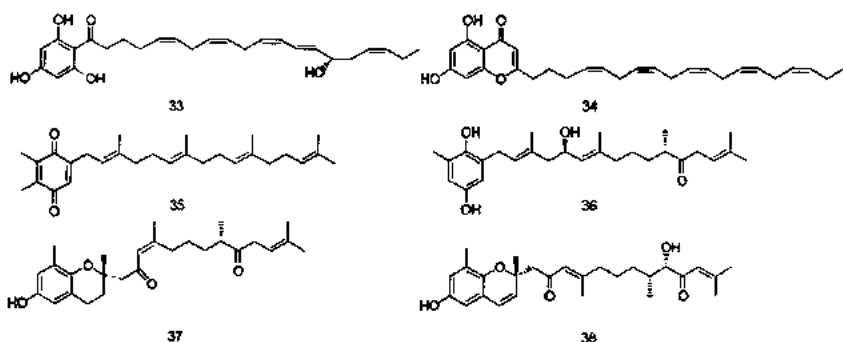
Muchas especies de algas pardas son cosechadas comercialmente por sus polisacáridos. Estas especies en general no producen metabolitos secundarios, y en muchos casos su defensa química se basa en la textura, y la presencia de florotaninos, compuestos fenólicos poliméricos, como por ejemplo, 26-27.



Casi todas las familias de algas pardas producen hidrocarburos pequeños (de C-7 a C-12), pero generalmente de C-11, relativamente volátiles y que se encuentran involucrados en los procesos reproductivos del alga. Se ha demostrado que los gametos femeninos exudan estos compuestos que sirven como atractores a los gametos masculinos y los mantienen en su cercanía. Esta actividad resulta aún más notable si consideramos que estos compuestos son prácticamente insolubles en agua.



El floroglucinol es la unidad estructural básica de los florotaninos. La condensación de este compuesto y de otros fenoles simples con ácidos grasos poliinsaturados lleva a la formación de los acil-floroglucinoles (p. ej. 33 y 34) típicos de los géneros *Cystophora* y *Zonaria*. Otra serie de compuestos típicos son las quinonas, hidroquinonas preniladas y otros compuestos relacionados de biosíntesis mixta, (ej. 35 - 38), muchos de ellos relacionados con el α -tocoferol. Son típicos en las familias Sargassaceae y Cystoceyraceae.

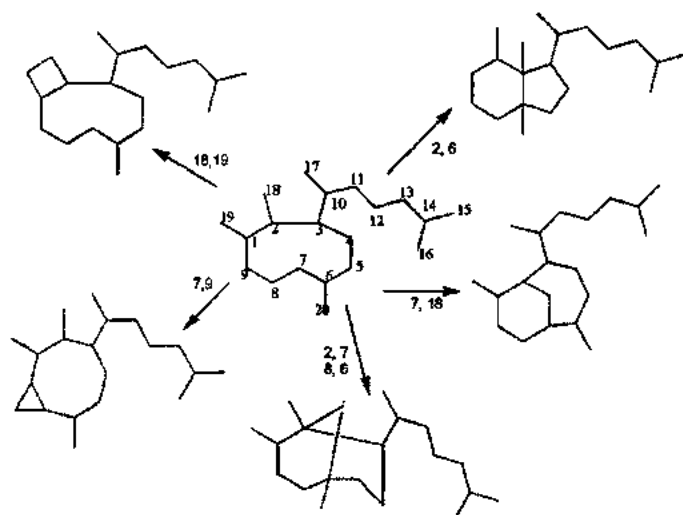


Los compuestos más característicos de las algas pardas son los diterpenoides cíclicos, generalmente encontrados en la familia Dictyotaceae (en particular del género *Dictyota* se han encontrado mas de 200 diterpenos nuevos). En algunos casos los esqueletos carbonados de estos diterpenos corresponden al de un sesquiterpeno ya conocido con el agregado de una unidad adicional de isopreno como "extensión".

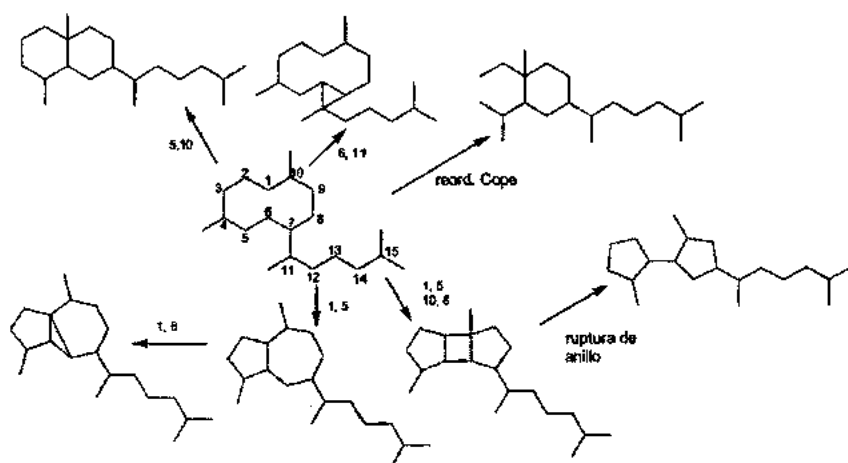
En general se pueden clasificar estos esqueletos carbonados en tres grupos:

- Derivados del esqueleto de xenicano (con un anillo de 9 miembros), el cual fue encontrado originalmente en octocorales.

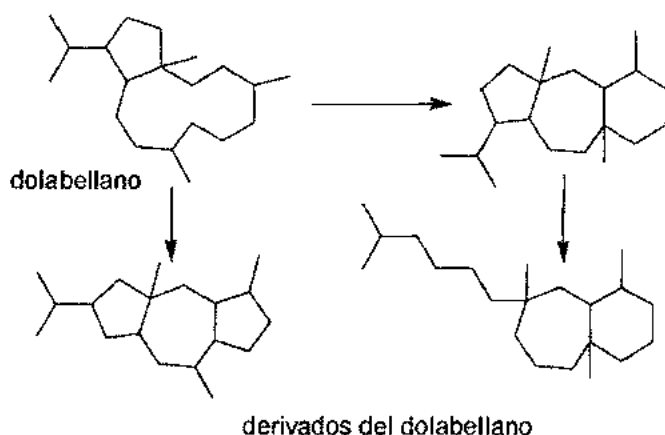
- Esqueletos que son en realidad “sesquiterpenos extendidos”.
- Derivados del esqueleto de dolabellano, aislado originalmente de un molusco opistobranquio (*Dolabella auricularia*) pero que son en realidad auténticos metabolitos de algas incorporados por el molusco con la dieta.



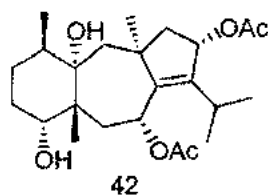
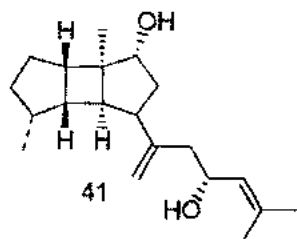
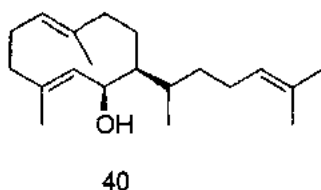
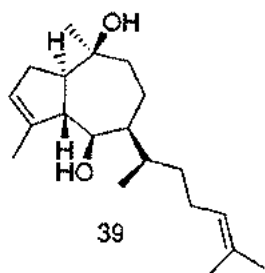
derivados del esqueleto de xenicano



sesquiterpenos "extendidos"



Casi todas las especies de Dictyotaceae de cualquier parte del mundo son químicamente ricas. Algunos ejemplos (39 – 42) de los varios cientos de diterpenos informados:



Algas Rojas

Desde el punto de vista de la variedad y la rareza de los compuestos que

producen, las algas rojas son las más importantes, y las más estudiadas. Entre los compuestos característicos se encuentran:

- Compuestos halogenados volátiles
- Acetogeninas halogenadas
- Monoterpenos halogenados
- Sesquiterpenos halogenados y no halogenados
- Fenoles halogenados
- Indoles halogenados

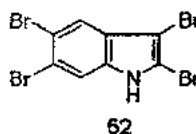
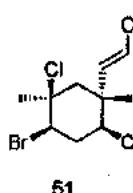
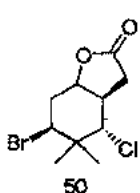
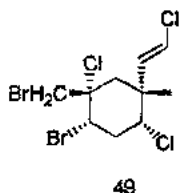
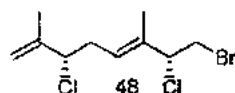
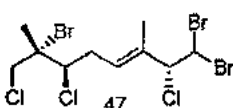
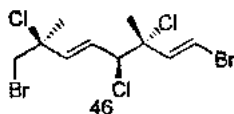
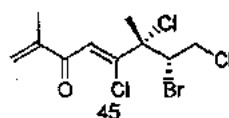
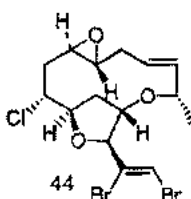
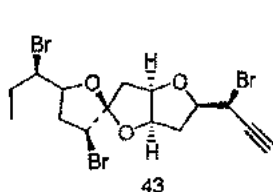
Entre las familias químicamente ricas en metabolitos secundarios encontramos:

• Familia *Bonnemaisoniaceae*: en particular los géneros *Asparagopsis* y *Bonnemaisonia*.

Producen compuestos volátiles por ejemplo CHBr_3 , acetonas halogenadas, butenonas halogenadas y ácidos acrílicos halogenados. En algunos casos se han identificado mezclas de más de cien de estos compuestos, los cuales confieren al alga un típico olor picante. Esto ha llevado a que en distintas islas del Pacífico se las use como condimento para la comida.

• Familias *Plocamiaceae* y *Rhizophyllidaceae* :

Producen monoterpenos halogenados. Los de *Plocamiaceae* (género típico: *Plocamium*) son lineales (ej. 45 - 48) o monocíclicos (ej. 43 - 44). Los de *Rhizophyllidaceae* (género típico: *Chondrococcus*) son generalmente monocíclicos (ej. 49 - 51). En la familia *Rhodophyllidaceae* se han encontrado haloindoles, por ejemplo 52:

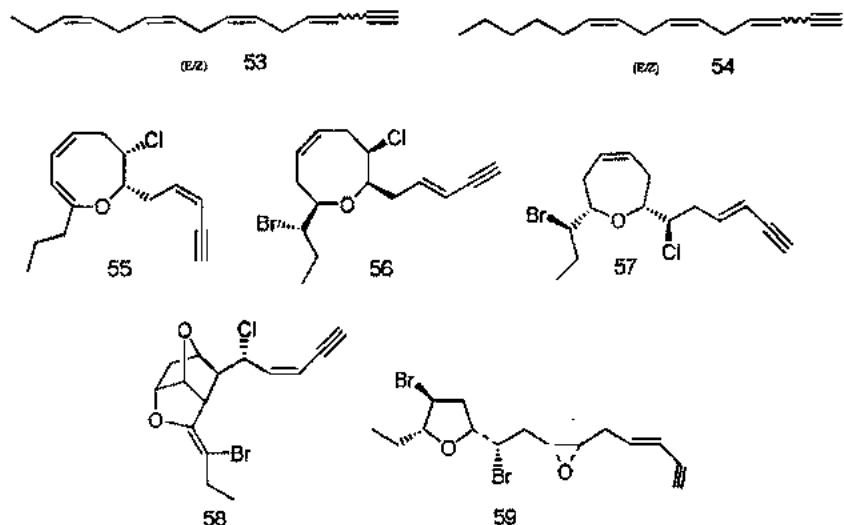


• Familia Rhodomelaceae:

Es la familia químicamente más rica en metabolitos secundarios, siendo el género *Laurencia* el más rico (más de 500 compuestos nuevos) de todo el reino vegetal. Muchos compuestos relacionados se han aislado también de moluscos predadores de estas algas (liebres de mar). De *Laurencia sp.* se han aislado más de 26 esqueletos novedosos de sesquiterpenos, más de 10 esqueletos nuevos de diterpenos y más de 50 tipos estructurales nuevos de acetogeninas.

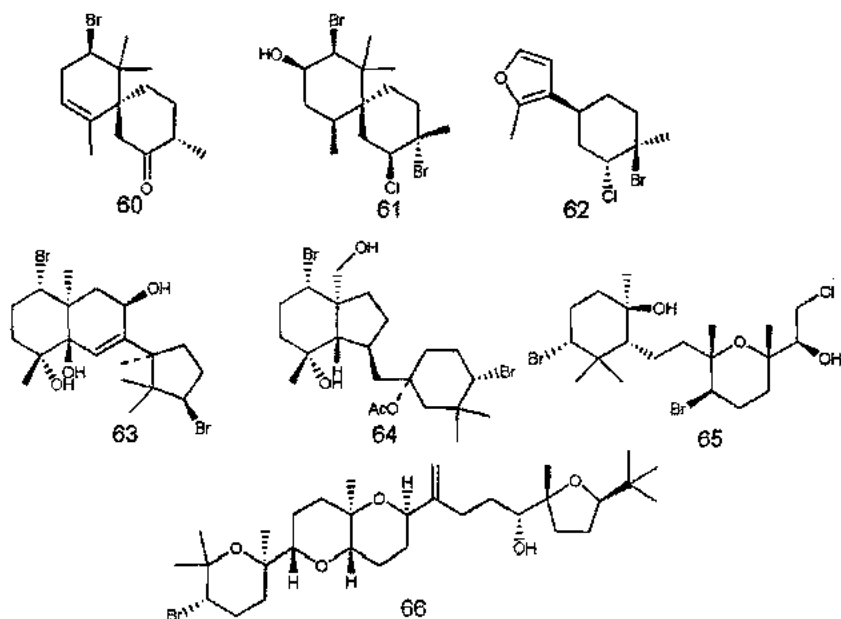
Acetogeninas halogenadas:

En general, estos lípidos tienen 15 átomos de carbono, y se cree que la mayor parte de ellos provienen de (3*E*)- o (3*Z*)-laurencenyna o (3*E*)- o (3*Z*)-neolaurencenyna (53 -54), originalmente aislados de *Laurencia okamurai*. Un gran número de estos compuestos presentan un éter cíclico de 7 u 8 miembros, y un triple enlace terminal conjugado con un doble enlace (ej. 55 -59), lo cual le confiere elevada reactividad química y actividad biológica.

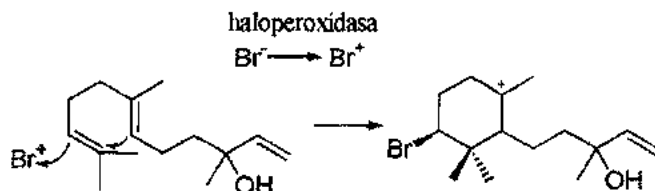


Terpenoides Halogenados:

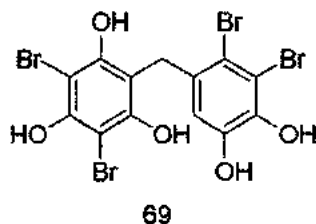
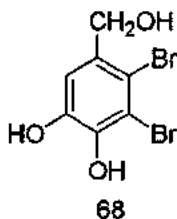
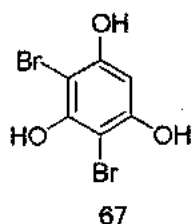
El género *Laurencia* produce una increíble variedad de sesquiterpenoides (ej. 60 - 62) y diterpenoides halogenados (63 - 65), muchos de ellos con esqueletos novedosos y actividad biológica. Los únicos sesterterpenoides halogenados aislados de *Laurencia*, son los thyrsiferoles (ej. 66), compuestos con potente actividad antitumoral aislados de *Laurencia thyrsifera* (Blunt et al., 1978).



Los procesos de halogenación son los que generalmente inician la ciclación de los precursores para dar origen a los distintos esqueletos. Estos procesos están catalizados por haloperoxidasas. Estas enzimas son muy específicas, y en general se trata preponderantemente de bromoperoxidasas. En todo el ámbito de los organismos marinos, son mucho más abundantes los compuestos bromados que los clorados. Esto no deja de sorprender ya que el Cl^- se encuentra en concentraciones varios órdenes superiores a las de Br^- en el agua de mar. Las haloperoxidasas transforman al Br^- en una especie electropositiva Br^+ , la cual se adiciona a un doble enlace e inicia la cascada de ciclaciones y reordenamientos.

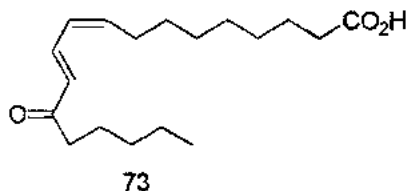
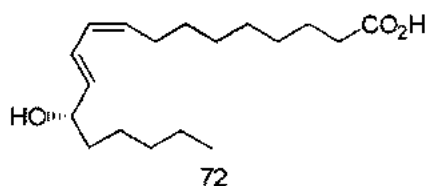
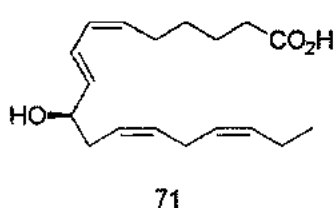
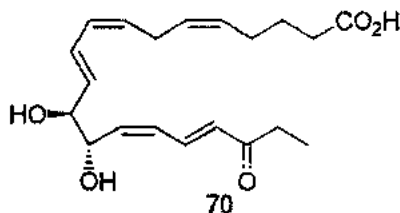


Otros compuestos de Rhodomelaceas (pero no del género *Laurencia*) son los bromofenoles, típicos de los géneros *Polysiphonia*, *Rhodomela*, *Vidalia* y *Odonthalia*.



Oxylipinas:

El término oxylipina refiere a un compuesto de alrededor de 20 átomos de carbono (un ácido graso o derivado) con un sitio adicional de oxidación además del grupo carboxilo, y fue acuñado para englobar a los derivados de ácidos grasos de 18 a 22 átomos de carbono. Estos compuestos tienen una amplia distribución en el medio marino, en particular en algas, sobre todo en Rhodophytas (ej. 70 -73). En mamíferos, estas estructuras son muy importantes para el mantenimiento de una fisiología normal, y su falta o exceso desencadena una serie de trastornos relacionados con procesos inflamatorios. Las algas marinas suelen tener altos niveles de ácidos grasos poliinsaturados de C-20 y C-22 ω -3. Muchas especies de algas (en particular las rojas) son capaces de metabolizar estos ácidos para formar análogos de prostaglandinas y tromboxanos.



Este es un área relativamente reciente en el estudio de los productos naturales marinos. Es poco lo que se sabe todavía del metabolismo y la función biológica de estos compuestos en algas, pero se cree que pueden actuar inhibiendo el crecimiento de otras especies competidoras.

5. ESPONJAS

Las esponjas son los animales multicelulares más primitivos, pertenecientes al *phylum* Porifera. Se trata de organismos acuáticos, en su mayor parte marinos y en su forma adulta se encuentran asentados sobre un sustrato sólido en lugares donde encuentran condiciones favorables para su crecimiento, aunque muchas de ellas en su estado larvario son móviles. Las esponjas habitan en todos los ambientes marinos, desde las zonas intermareales a las profundidades abisales, y en muchos ecosistemas constituyen el *phylum* bentónico predominante. Se desarrollan en una increíble variedad de formas (esféricas, incrustantes, tubulares, vaso, irregulares) y colores, en muchos casos relacionadas con las condiciones del ecosistema (profundidad, corriente, luz, salinidad). Si bien existen unas 7000 especies descritas se considera que el número total puede llegar a superar las 15000. Esto se debe a que ciertas regiones marinas se encuentran muy poco estudiadas desde el punto de vista taxonómico y a que la taxonomía de esponjas es muy compleja.

Las esponjas filtran agua de mar para alimentarse, respirar y excretar productos de desecho. El término Porifera indica que se trata de animales cubiertos de poros pequeños inhalantes, llamados ostia, que conducen a una red interna de canales y eventualmente a otros orificios mayores exhalantes llamados ósculos. En ciertas formas de esponjas (lámina, hoja, vaso) es posible distinguir una cara inhalante y otra exhalante. Las esponjas pueden “bombear” hasta cien veces su volumen interno de agua de mar por hora.

Las esponjas no son organismos coloniales, y poseen una organización interna de tipo celular, en la que no es posible distinguir órganos especializados u otras estructuras relacionadas. Presentan varios tipos de células que cumplen las distintas funciones necesarias para la supervivencia, como ejemplo, provocar contracciones que permitan el paso de agua a través de los tejidos, captar e incorporar las partículas de alimento en el agua filtrada, transportar este alimento a otras células, etc. El esqueleto está reemplazado por un conjunto de pequeñas espinas llamadas espículas, un tejido proteico similar al colágeno, llamado spongina, o una combinación de ambos. Las espículas a su vez pueden ser calcáreas o silíceas, de una gran variedad de tamaños y formas, que constituyen una de las características principales para la identificación taxonómica.

El *phylum* Porifera se divide en cuatro clases: Archaeocyatha (extintas), Demospongiae (presentan espículas silíceas y/o fibras proteicas), Calcarea (espículas compuestas por carbonato de calcio) y Hexactinellida (esponjas “de vidrio”, también con espículas silíceas).

Las esponjas marinas son el *phylum* mas estudiado debido a múltiples razones:

- Son abundantes en cualquier mar, sin importar profundidad o temperatura.

- Son relativamente grandes y fáciles de recolectar.
- Producen la mayor variedad de metabolitos secundarios.
- Ofrecen mucha variabilidad química dentro de la misma especie.
- Albergan microorganismos simbiotes los cuales muchas veces son los verdaderos productores de los metabolitos secundarios.

Sería deseable poder contar con una quimiosistemática de la misma forma que existe con las plantas para así, con la ayuda de un biólogo, poder decidir en el campo qué muestras recolectar. Sin embargo esto no es sencillo debido a varias razones:

- Las esponjas albergan una gran cantidad de microorganismos en su superficie, en sus canales y en su matriz intercelular. Por lo tanto, salvo en casos muy especiales, lo que se extrae de una esponja puede provenir de un microorganismo. También puede darse una interacción biológica entre la esponja y el simbiote que puede dar origen a los compuestos, o puede ser un producto metabólico a partir de un precursor proporcionado por el simbiote. Lamentablemente es muy difícil el cultivo de estos microorganismos simbiotes.

- Muchas esponjas existen como asociaciones (complejos epizoicos) muy difíciles de separar en sus unidades.

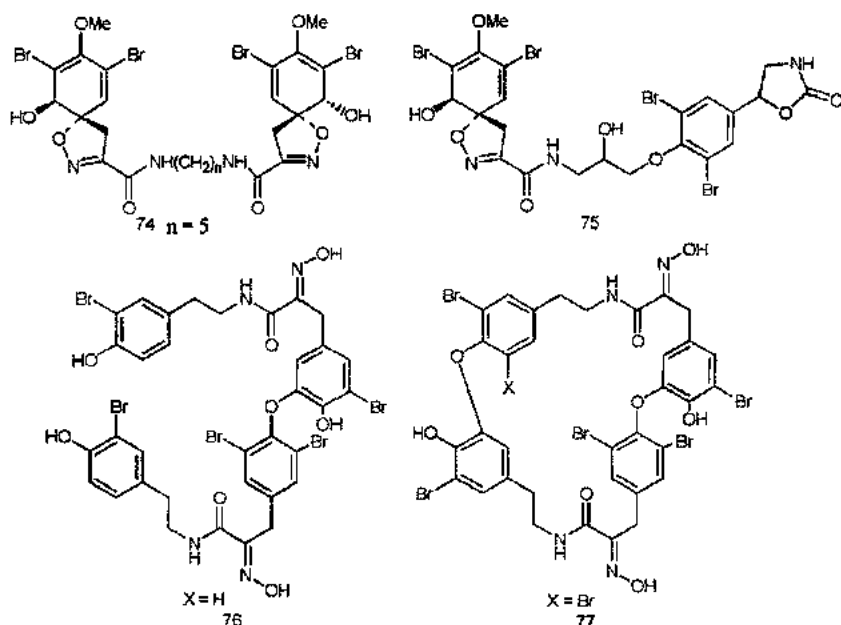
- La taxonomía de las esponjas debe ser confiable; esto a su vez implica contar con un especialista en el tema, de los cuales hay muy pocos, buenas fotografías submarinas y ejemplares adecuadamente preservados para la taxonomía.

- En algunos casos es posible observar la producción de compuestos diferentes según la profundidad y la localidad de colección. Por esto mismo, para poder trazar un perfil quimiotaxonómico de una especie, el estudio debe ser efectuado sobre un número suficiente de ejemplares para poder considerar estas variaciones naturales. En muy pocos casos se realiza este tipo de estudio.

La mayor parte de los metabolitos secundarios de esponjas han sido aislados de especies de la clase Demospongiae. Veremos algunos casos donde es posible intentar agrupaciones quimiosistemáticas, otro donde resulta evidente que esto no es posible, y una serie de clases estructurales típicas de metabolitos de esponjas, mencionando donde fuera posible las familias u órdenes en que pueden encontrarse.

Orden Verónigida:

Los metabolitos típicos en el orden Verónigida provienen biogenéticamente de bromotirosina. Algunos compuestos muy típicos son las areothioninas (ej. 74) y fistularinas (ej. 75) típicas del género *Aplysina*, familia Aplysinae, y las bastadinas (ej. 76 – 77), típicas del género *Ianthella*, familia Ianthellidae (Pordesimo y Schmitz). Existen numerosos ejemplos de este tipo de compuestos, sobre todo de las bastadinas.

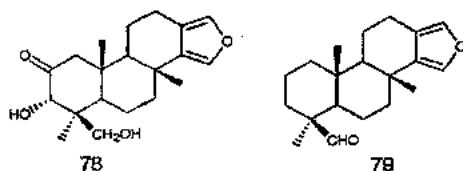


Todos estos compuestos poseen grupos funcionales poco habituales, como el anillo de isooxazolina espiránico en las aerotioninas y fistularinas, y una oxima en las bastadinas. Las bastadinas pueden a su vez ciclarse para formar un macrociclo, y poseen potente actividad antibiótica, y citotoxicidad frente a P388 (leucemia (ED 2-4 $\mu\text{g/mL}$)).

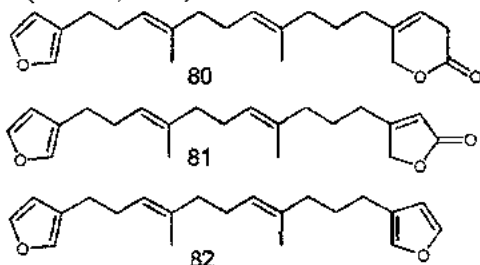
Orden Dictyocerátida:

Es uno de los órdenes más abundantes y distribuidos universalmente. Está dividido en tres familias: Spongiidae, Thorectidae y Dysidiidae. Las dos primeras incluyen a las esponjas “de baño”, que no poseen espículas, usadas desde antaño y cosechadas comercialmente, siendo *Spongia officinalis* la especie más común. En general, producen una serie de compuestos muy característicos y abundantes (1 – 10 % en peso seco).

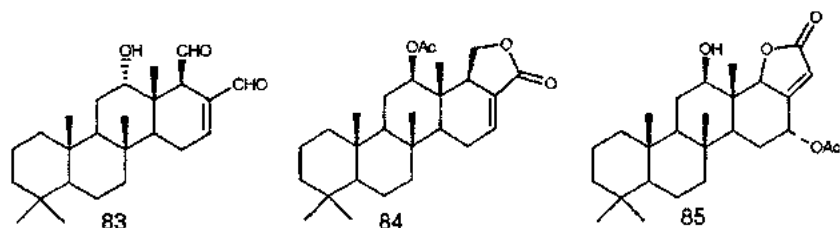
• Diterpenoides con esqueleto de spongiano: típicos en la familia Spongiidae. En general poseen un anillo furánico y presentan citotoxicidad (ej. 78 -79).



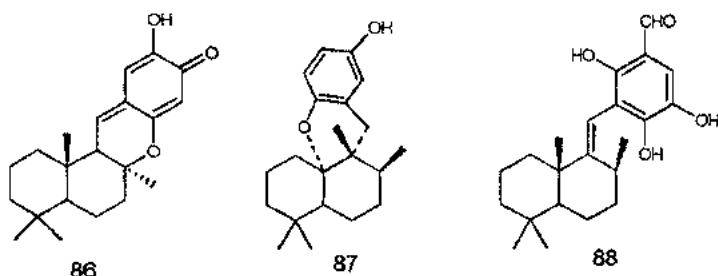
• Furano sesterterpenos con un ácido tetrónico terminal y furano sesterterpenos degradados de 21 átomos de carbono (ej. 80-82). Se encuentran entre los productos naturales marinos más antiguos y abundantes. Son típicos de las familias Spongiidae y Thorectidae, especialmente los géneros *Spongia* e *Ircinia*. Varios de estos compuestos mostraron citotoxicidad a concentraciones micromolares (Barrow, 1988).



• Sesterterpenoides tetracíclicos de la familia del scalarano y relacionados (ej. 83 - 86). El metabolito más conocido es el scalarial (83) aislado de especies del género *Cacospongia* (Cimino et al., 1974). Este compuesto posee potente actividad antiinflamatoria e inhibidora de fosfolipasa A-2 (PLA₂) con IC₅₀: 0.7 μ M.



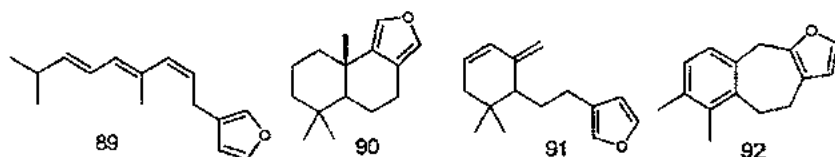
• Poliprenilquinoles y Quinonas: en general se trata de sesquiterpenos unidos a una quinona o hidroquinona (ej. 86 - 88), siendo la puerpehenona (86), aislada de *Heteronema* sp., el ejemplo más conocido (Kohmoto et al., 1987). Varios de estos compuestos presentan interesante actividad antiviral.



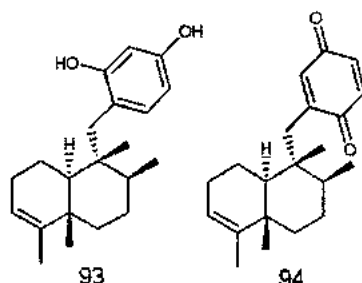
Familia Dysidiidae:

Esta familia presenta un solo género importante: *Dysidea*. Sin embargo suele producir una gran variedad de metabolitos secundarios, destacándose dos clases:

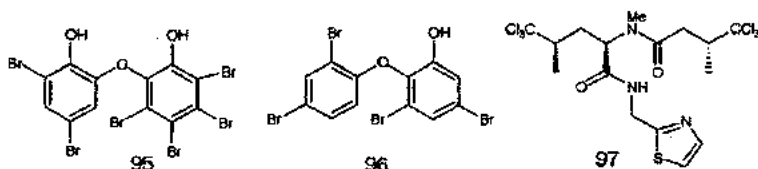
- Furanosesquiterpenos: (ej. 89 -92)



• Sesquiterpenhidroquinonas o hidroquinoles: entre ellos se han aislado dos compuestos de *Dysidea avara*, avarol (93) y avarona (94) (Minale et al. 1974) que presentan interesante actividad e índice terapéutico contra el HIV a dosis de 0.1 – 1 $\mu\text{g/mL}$ (Sarin et al., 1987). Varios derivados de estos compuestos se encuentran en estudios clínicos.



Dysidea herbacea: esta especie ha sido muy estudiada, sobre todo en el Indo Pacífico, y demuestra las dificultades para establecer relaciones quimio-taxonómicas en los casos en que intervienen microorganismos simbiotes. Esta especie posee un muy elevado contenido de simbiotes, en particular algas cianófitas. Además de los compuestos típicos de *Dysidea* ya descritos, *Dysidea herbacea* brinda otras dos clases de compuestos: polibromo-difeniléteres (ej. 95 -96) y derivados policlorados de aminoácidos (ej. 97). Compuestos muy similares a estos últimos han sido aislados de algas cianófitas.

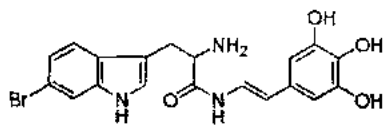


En 23 colecciones separadas de esta especie en el arrecife de la Gran Barrera (Australia) se observaron diferentes perfiles de compuestos. Los ejemplares que contenían bromofenoles coproducían sesquiterpenos (metabolitos típicos de otras especies del género *Dysidea*), mientras que en otros ejemplares coexistían derivados clorados de aminoácidos con sesquiterpenos, pero en proporciones muy variables, desde la preponderancia de uno a la del otro tipo de compuesto. Este fenómeno se observó incluso en ejemplares separados por solo 100 metros. Finalmente, se llegó a la conclusión de que los metabolitos halogenados (bromofenoles y derivados de aminoácidos) de *Dysidea herbacea* provenían de las algas microscópicas simbiotes o de una interacción metabólica entre ellas y la esponja.

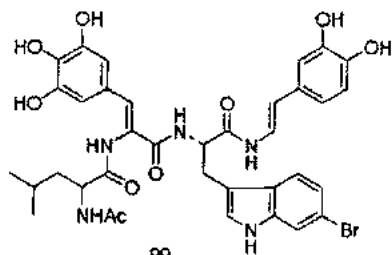
Otras clases de compuestos característicos de esponjas:

Alcaloides peptídicos de *Cliona*:

Las esponjas del género *Cliona* tienen la capacidad de excavar sustratos calcáreos como rocas, corales y valvas de moluscos, y representan una amenaza para los arrecifes coralinos y pesquerías comerciales o criaderos de ostras. Estas esponjas poseen enzimas capaces de disolver el carbonato de calcio, y además producen metabolitos secundarios con numerosos grupos fenólicos. Se cree que estos compuestos intervienen en el metabolismo del calcio, complejando el mineral disuelto por las enzimas. Entre los metabolitos mas característicos de las esponjas de este género se encuentran la clionamida (98) y las celenamidas (ej. 99). Estos compuestos también poseen actividad antibiótica, debida a sus grupos fenólicos.



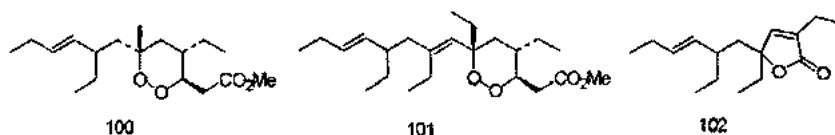
98



99

Peróxidos Cíclicos:

Las esponjas del género *Plakortis* suelen producir peróxidos cíclicos y compuestos relacionados (ej. 100 – 102), los cuales provienen de una biosíntesis vía policétidos, con incorporación de unidades de ácido propiónico, butírico y fenilacético. Algunos de estos compuestos presentan citotoxicidad frente a P388 (Gunasekera et al. 1990).



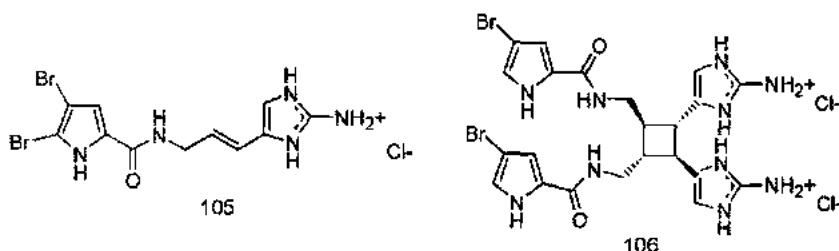
Poliacetilenos:

Los poliacetilenos son frecuentemente encontrados como metabolitos de esponjas en numerosos órdenes y familias. En general se trata de compuestos de veinte a treinta átomos de carbono, tanto pares como impares, lo cual constituye una característica notable desde el punto de vista biosintético. Además en algunos casos presentan grupos funcionales poco comunes, como por ejemplo bromuros vinílicos, y triples enlaces conjugados con otros triples o dobles enlaces (ej. 103 – 104). En algunos casos este tipo de compuestos también ha sido aislado de moluscos que se alimentan de las esponjas que los producen. Algunos de estos compuestos presentan ictiotoxicidad y actúan “in vivo” sobre el sistema nervioso central.



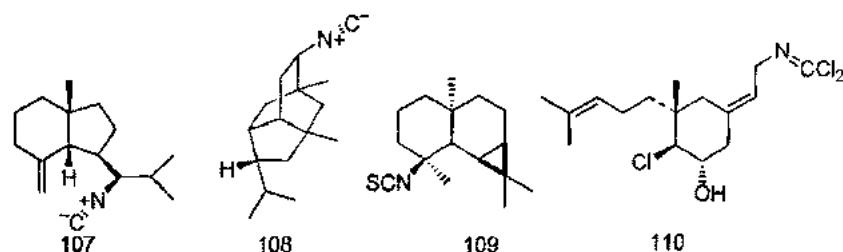
Oroidina y compuestos relacionados:

Las esponjas del género *Agelas* suelen ser una fuente de alcaloides bromopirrólicos, muy probablemente derivados de prolina. La oroidina (105), uno de los productos naturales marinos más antiguos, es un pigmento amarillo aislado de *Agelas oroides*, y es el ejemplo más representativo de toda una familia de compuestos relacionados. Se cree que estos bromopirroles pueden tener un origen microbiano. La sceptrina (106) aislada de *Agelas sceptrum* es conceptualmente un dímero [2 + 2] de un derivado monobromado de oroidina y puede tener un origen fotoquímico (Keifer et al. 1991).



Isonitrilos, isotiocianatos y tiocianatos sesquiterpénicos:

Este tipo de compuestos es característico de esponjas pertenecientes al orden Halichondrida y de los moluscos que se alimentan de ellas. Los isonitrilos tienen un olor muy característico, y los moluscos nudibranquios que se alimentan de estas esponjas incorporan estos compuestos y los distribuyen por su manto. De esta manera consiguen tener un olor y sabor desagradable para desalentar a un posible predador. Estos grupos funcionales pueden estar ubicados en prácticamente cualquier posición de varios esqueletos carbonados de sesquiterpenos, algunos de ellos exclusivos del ámbito marino como por ejemplo el axano (107) (Burreson et al., 1975) y el pupukeanano (108). En muchos casos se ha informado la presencia de formamidas junto a los isonitrilos, pero en realidad se trata de artefactos producidos por hidratación del grupo isonitrilo durante el procesamiento de la muestra.

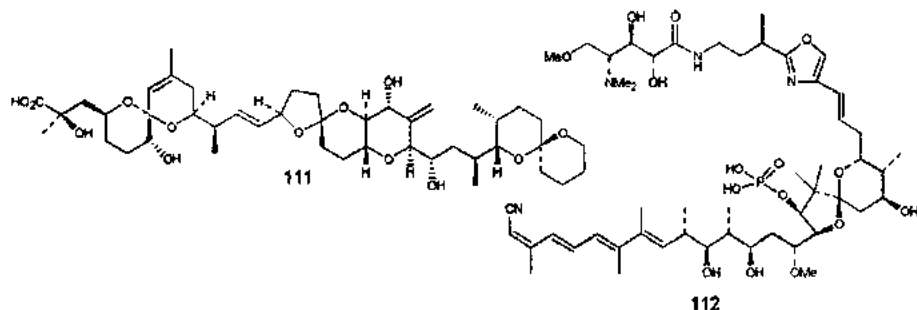


La mayor parte de los isonitrilos sesquiterpénicos poseen una actividad muy elevada frente a líneas celulares de tumores sólidos. Lamentablemente en los ensayos "in vivo" esta actividad desaparece, probablemente debido a la hidratación metabólica del grupo isonitrilo, y a que las formamidas producidas son totalmente inactivas.

Poliéteres cíclicos:

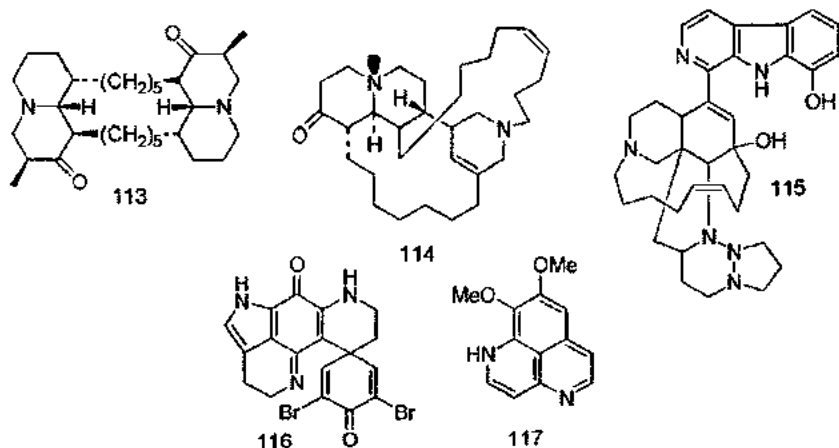
Algunas esponjas producen poliéteres cíclicos de estructura muy compleja, generalmente citotóxicos, como por ejemplo el ácido okadaico (111), aislado originalmente de *Halichondria okadae* (Tachibana et al., 1981), aunque luego se demostró que el productor de dicho compuesto era el dinoflagelado simbiote *Prorocentrum lima*. El ED_{50} del ácido okadaico es de 1.7 ng/mL. Este compuesto es además un agente promotor de tumores, y un inhibidor selectivo de fosfatasa tipo I y IIa. El ácido okadaico produce contracción en las fibras musculares debido a una hiperfosforilación de la cadena corta de miosina. Esto a su vez se debe al efecto inhibitorio del compuesto sobre las fosfatasa proteicas. La promoción de tumores ocurre por la hiperfosforilación de quinasas (ej. PKC) que inician la proliferación celular. Otro compuesto, la calyculina A (112), aislado de la esponja *Disco-dermia calyx* (Kato et al., 1986) si bien posee una estructura diferente, inte-

racciona también con los receptores del ácido okadaico, y es aún más potente como promotor de tumores.

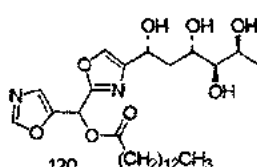
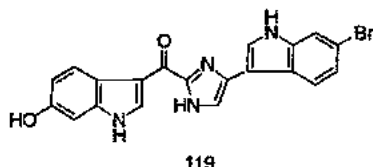
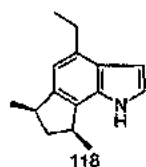


Alcaloides:

Con el refinamiento de los métodos de aislamiento e identificación, se hizo posible la elucidación de estructuras cada vez más complejas. De esta manera se fueron descubriendo nuevas familias de alcaloides típicos de esponjas. Los alcaloides bis-quinolizidínicos (ej. 113) fueron aislados de esponjas de los géneros *Petrosia* y *Xestospongia* (familia Nepheliospongiadae), y son responsables de la actividad ictiotóxica de los extractos. Las sarainas (ej. 114) son una familia de alcaloides aislados de *Reniera sarai*. Por su estructura, pueden actuar como catalizadores de transferencia de fase, de la misma manera que los éteres corona. Las manzaminas (ej. 115) son alcaloides antitumorales de *Haliclona* sp. (Sakai et al., 1986). Otras familias de alcaloides antitumorales son las discorhabdinas (ej. 116) (Perry et al., 1988) aisladas de los géneros *Latrunculia* y *Prianos*, y las aaptaminas (ej. 117) aisladas de *Aaptos aaptos*. Estos últimos compuestos también poseen actividad antibiótica.

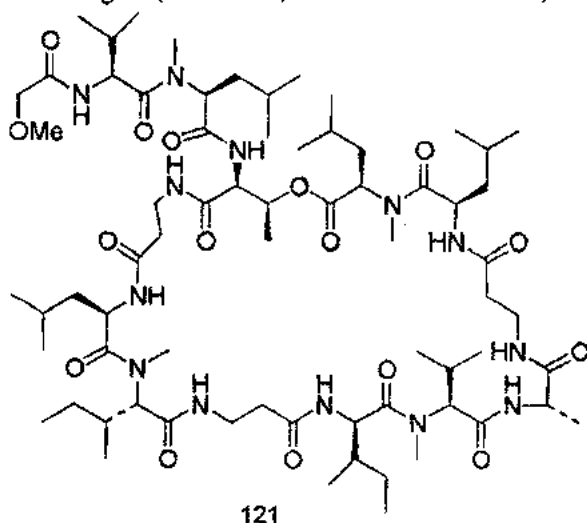


Otros ejemplos de alcaloides novedosos y bioactivos de esponjas son las trikenetrinas (ej. 118) aisladas de *Trikenetron sp.*, que poseen actividad antibiótica y las topsentinas (ej. 119) aisladas de *Topsentia sp.*, las cuales presentan actividad antibiótica y antitumoral. Los bengazoles (ej. 120) y sus compuestos relacionados, las bengamidas, son compuestos de biosíntesis mixta que contienen anillos de isoxazol y una cadena polihidroxilada. Estos compuestos aislados de la familia Jaspidae presentan interesante actividad antiviral, antitumoral y antihelmíntica. (Adamczeski et al., 1988)



Péptidos Cíclicos:

Existen numerosos ejemplos de péptidos cíclicos (ej. 121) aislados de esponjas. Estos compuestos tienen propiedades químicas que los asemejan más a sustancias lipofílicas que a proteínas, probablemente debido a la presencia de varios aminoácidos N- metilados. Además se suelen encontrar en su estructura algunos aminoácidos típicos del medio marino, como por ejemplo 6-bromotriptofano. La estructura de estos péptidos cíclicos con una cavidad interior capaz de hospedar una molécula pequeña o un metal, les suele conferir actividad farmacológica (antibiótica, antitumoral o antiviral).



6. CELEENTERADOS:

El término Coelenterata incluye dos *phyla*: Cnidaria y Ctenophora. Este último está muy poco estudiado químicamente y no será tratado, mientras que el *phyllum* Cnidaria probablemente sea el más rico químicamente de todo el ámbito marino. Los cnidarios existen en una gran diversidad de formas (pólipos o medusas) y poseen una sola abertura (la boca) muchas veces rodeada de pequeños tentáculos. A su vez estos tentáculos poseen los nematocistos (“cnida” en griego) que actúan como pequeños arpones de defensa, los cuales inyectan toxinas irritantes, generalmente péptidos. Los cnidarios están considerados como los organismos más simples a nivel de organización de tejidos, ya que sus células se encuentran organizadas. Al *phyllum* Cnidaria se lo puede dividir en las siguientes clases y subclases:

Clase Hydrozoa

- Subclase Hydroida (hidroides)

- Subclase Siphonophora

Clase Cubozoa

Clase Scyphozoa (medusas)

Clase Anthozoa

- Subclase Alcyonaria u Octocorallia (corales blandos, gorgonias)

- Subclase Zoantharia o Hexacorallia (anémonas y corales duros).

Varias de estas clases de celenterados presentan dificultades de recolección en cantidad suficiente o en su procesado y por lo tanto se encuentran muy poco estudiadas. La mayor parte de los metabolitos secundarios provienen de la clase Anthozoa, principalmente de octocorales, que en algunos casos pueden tener más de 10% en peso seco de sustancias extraíbles con solvente orgánicos.

Subclase Alcyonaria u Octocorales:

Esta subclase a su vez puede dividirse en:

Superorden Protoalcyonaria: se trata de pólipos solitarios

Superorden Synalcyonaria: se trata de organismos coloniales, que a su vez se divide en 6 órdenes:

- Orden Stolonifera

- Orden Telestacea.

- Orden Alcyonacea: también llamados “corales blandos”.

- Orden Coenothecalia: “coral azul” con solo 1 género: *Heliopora*.

- Orden Gorgonacea: popularmente conocidos como gorgonias, con su característica forma de árbol, mano, abanico o látigo (“sea fans”, “sea whips”).

- Orden Pennatulacea: poseen forma de pluma, “sea pens”.

La mayor parte de los metabolitos secundarios provienen de alcyonáceos y gorgonáceos, aunque se han encontrado en todos los órdenes de Synalcyonaria. La mayoría de los celenterados son carnívoros, y un gran número de ellos alberga algas simbiotes intracelulares, llamadas zooxantelas, las

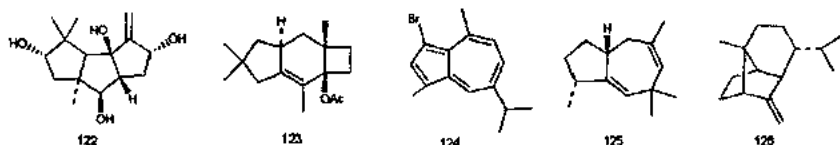
cuales llevan a cabo procesos biosintéticos que son aprovechados por el coral. Estas plantas unicelulares representan el estado vegetativo de dinoflagelados y lucen como esferas de 8 a 12 μm . Son extremadamente abundantes en el tejido animal, hasta 30000 simbiontes por milímetro cúbico de tejido. En general se asocia la producción de ciertos metabolitos secundarios, sobre todo terpenoides, a estas zooxantelas.

La actividad fotosintética de las zooxantelas es de fundamental importancia en el balance de energía de los arrecifes de coral. Es una de las principales razones por las cuales los arrecifes se encuentran en aguas claras, cálidas y poco profundas. La existencia de zooxantelas pone un manto de duda sobre el verdadero origen de los compuestos aislados de corales. Al igual que en el caso de las esponjas, los metabolitos secundarios pueden ser producidos por el animal, por su simbionte, o por una asociación de ambos.

En general, los metabolitos secundarios de octocorales pueden clasificarse en cuatro clases principales: sesquiterpenoides, diterpenoides, prostaglandinas (y otros eicosanoides) y esteroides polioxigenados.

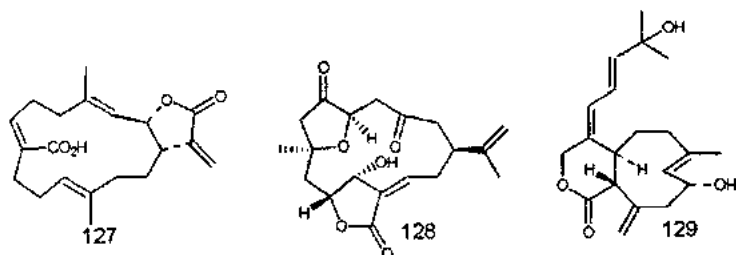
Sesquiterpenoides:

Muchas especies de octocorales despiden al ser cortados un fuerte olor terpenoidal, asociado generalmente a sesquiterpenos. Además de los compuestos volátiles, los octocorales exhiben una gran variedad de estructuras de sesquiterpenoides con diferente grado de oxidación. Varios de los esqueletos carbonados de estos compuestos son novedosos, p. ej. 122 – 126.

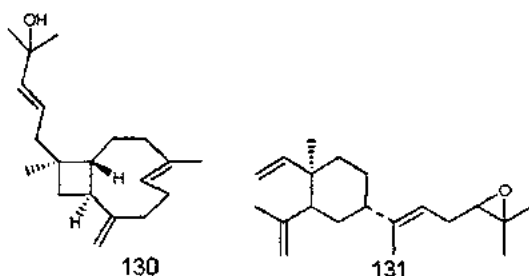


Diterpenoides:

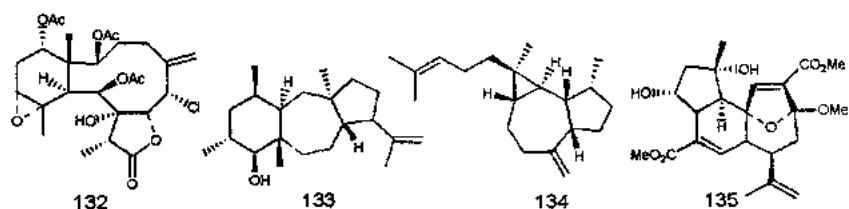
Son los compuestos más abundantes y distribuidos producidos por los octocorales. En algunos casos suelen ser los componentes mayoritarios de los extractos orgánicos. En particular son muy comunes los cembranos y cembranólidos (Munro, 1987) (ej: 127 – 128), con diferente grado de oxidación, típicos en varios géneros de corales blandos como *Sarcophyton*, *Nephtea*, *Sinularia* y *Lobophyton*. Los xenicanos (ej. 129) son diterpenoides del género *Xenia*, y también se los ha detectado en ciertas especies de algas pardas. Se cree que muchos de estos compuestos tienen actividad antipredatoria o antifouling (inhibiendo el asentamiento de especies competitivas). En algunos casos esto ha sido comprobado experimentalmente.



Otras clases de diterpenoides típicos de octocorales son en realidad esqueletos de sesquiterpenoides extendidos en una unidad de isopreno. Por ejemplo, los xeniaphylanos (ej. 130), típicos de los géneros *Xenia* y *Nephtea* son análogos diterpénicos de cariofilanos, y los lobanos (ej. 131), típicos del género *Lobophyton* son en realidad “elemanos extendidos”.

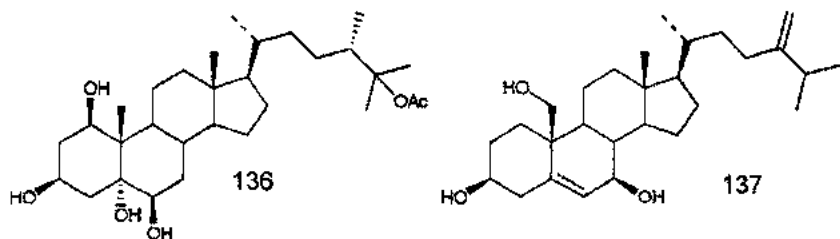


Existen numerosos esqueletos carbonados novedosos de diterpenos aislados de octocorales. Por ejemplo, las gorgonias del género *Briareum* producen diterpenoides con esqueleto de briarano (ej. 132), que presentan como característica notable un alto grado de funcionalización con grupos oxigenados. Se han identificado más de cien compuestos de esta familia, muchos de ellos con actividad citotóxica. Otro esqueleto diterpénico novedoso es el clavularano (ej. 133) típico en el género *Clavularia*. Con el desarrollo de las nuevas técnicas de RMN ha aumentado en forma notable el número de esqueletos novedosos identificados de diterpenos, como por ejemplo los compuestos 134–135.



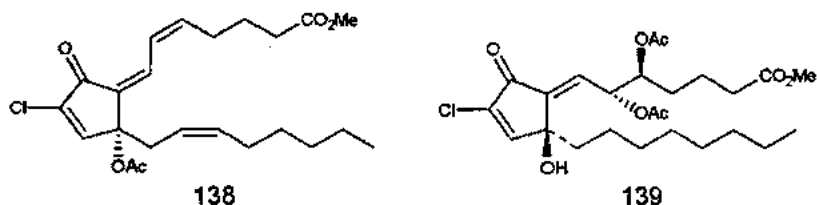
Esteroles Modificados:

Ciertas especies de gorgonias suelen producir esteroides con grandes modificaciones en su estructura (ej. 136 – 137), desde la polihidroxilación, glicosidación y la presencia de anillos abiertos (secoesteroides).



Eicosanoides:

Luego del descubrimiento de prostaglandinas en octocorales, continuó el aislamiento de eicosanoides con variaciones estructurales cada vez más notables (138 – 139), como por ejemplo la sustitución por halógenos (Cl, Br, I) (Iguichi et al. 1985). Algunos compuestos de esta familia presentan actividad antitumoral y se encuentran actualmente en etapas de estudio pre-clínicas.

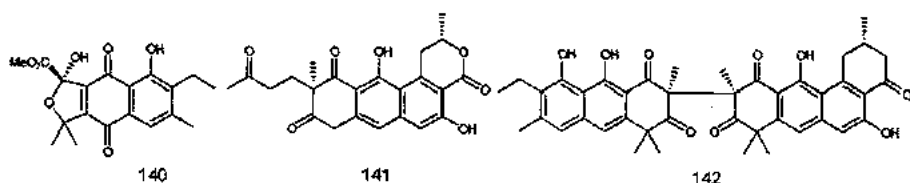


Otros Celenterados

Si bien los octocorales son los celenterados químicamente más ricos y más estudiados, existen ejemplos de metabolitos bioactivos aislados de otros organismos, sobre todo en clase Hydrozoa y la subclase Hexacorallia.

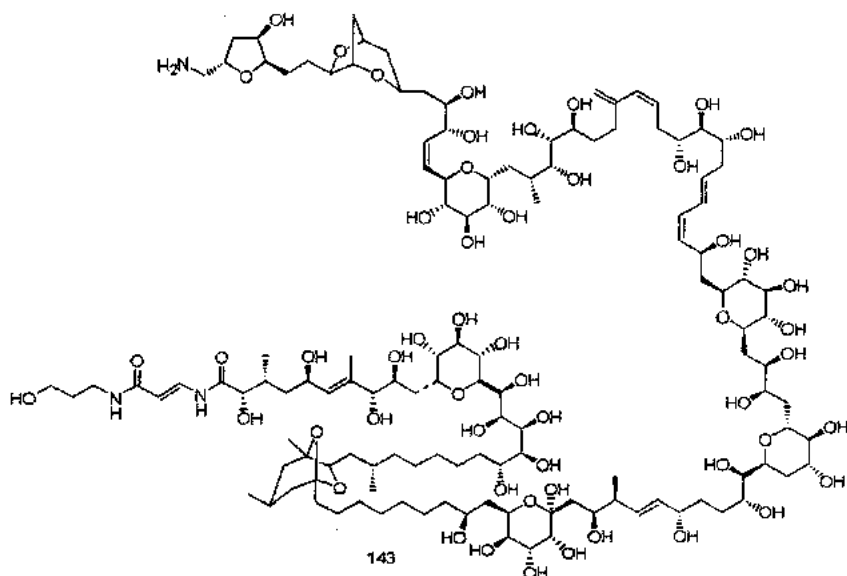
Hydrozoa:

Los hidrozooos no suelen ser muy estudiados químicamente debido entre otras causas a que no es sencillo recolectarlos en cantidad suficiente. En los casos en que esto es posible, se han obtenido de algunas especies extractos orgánicos químicamente muy ricos. Un ejemplo de esto es el hidrozoo *Garveia annulata*, que produce una gran cantidad de antracetonas citotóxicas (ej. 140 – 142) denominadas garveatinas.

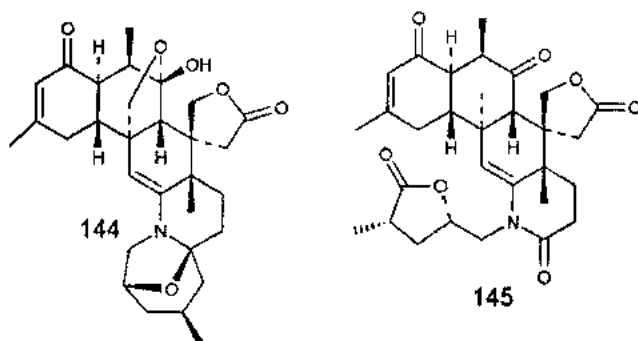


Subclase Zooantharia:

Los zooanthidos son famosos por producir la toxina natural no peptídica de mayor potencia, la palytoxina (143), aislada de *Palythoa toxica* (Moore y Bartolini, 1981). La historia del descubrimiento de este compuesto es notable por varios aspectos. Por un lado se trata de uno de los pocos ejemplos en el ámbito marino de un descubrimiento de un compuesto activo basado en literatura etnográfica. Una antigua leyenda hawaiana llevó a la búsqueda del “alga tóxica de Hana” (que en realidad era el zooanthido *Palythoa toxica*) que los guerreros del lugar utilizaban para envenenar sus flechas. Por otra parte, la elucidación estructural de la palytoxina constituye una de las mayores proezas de la química de productos naturales, si tenemos en cuenta la estructura del compuesto que tiene más de 120 átomos de carbono y más de sesenta centros quirales sin contener “unidades repetitivas” como aminoácidos o azúcares. La mayor parte de este trabajo fue realizado durante las décadas de 1960 y 1970, época en la que aún no se contaba con equipos de RMN de alta resolución y las modernas técnicas de RMN bidimensional utilizadas hoy en día.



La presencia de ésta y otras toxinas de gran tamaño ha desalentado los estudios sobre zooanthidos. Sin embargo, se han informado algunos otros compuestos con actividad antitumoral y estructuras novedosas como las zooanthaminas (ej. 144 – 145), aisladas de organismos del género *Zooanthus*.



7. BRYOZOOS

El *phyllum* Bryozoa incluye a más de 5000 especies, la mayor parte de ellas marinas. Estos animales, poco conocidos pero muy comunes y distribuidos, son organismos coloniales formados por varios millones de individuos. Es posible encontrar colonias de bryozoos sobre prácticamente cualquier sustrato sólido: rocas, valvas de moluscos, caparazones de crustáceos, quillas de embarcaciones, muelles, madera y algas. Las colonias de bryozoos pueden tener una gran variedad de formas: desde una fina película incrustante sobre el sustrato hasta formas de hoja, árbol, o red. La mayor parte de las especies de bryozoos son incrustantes. Las colonias de bryozoos pueden ser fácilmente confundidas con hydrozoos, algas y corales. El tamaño de las colonias puede variar desde unos pocos milímetros hasta varios metros en algunas regiones del mundo, aunque predominan las colonias de muy pequeño tamaño. En todos los casos los individuos que componen una colonia no tienen más de 1 mm de largo. Los bryozoos se alimentan de organismos microscópicos, incluyendo algas unicelulares y diatomeas. Estas son capturadas por unos pequeños tentáculos que rodean la abertura bucal de cada individuo. A su vez los bryozoos son consumidos por peces y erizos de mar, y compiten por los sustratos sólidos con esponjas, algas y tunicados, por lo cual no es sorprendente que en algunos casos produzcan sustancias para defensa química.

Debido a que en general el tamaño de las colonias es muy pequeño, los estudios químicos en este *phyllum* son más bien escasos. Sin embargo, los

bryozoos han brindado algunas de las sustancias más importantes desde el punto de vista farmacológico en el ámbito marino. En general se han aislado básicamente tres tipos de metabolitos secundarios: poliéteres macrocíclicos, alcaloides indólicos y alcaloides pirrólicos.

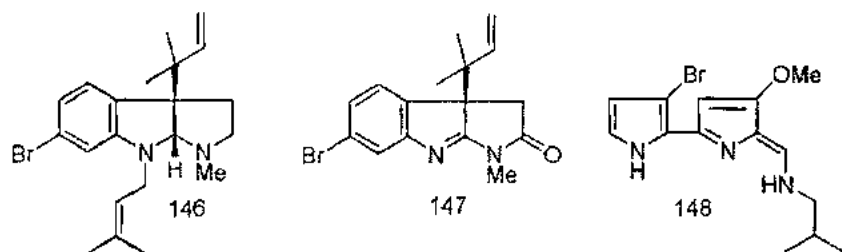
Poliéteres Macrocíclicos:

Como ya fue mencionado previamente, uno de los compuestos antitumorales de origen marino actualmente en fase II es la bryostatina 1 (14). Este es un ejemplo de toda una familia de poliéteres macrocíclicos aislados originalmente de *Bugula neritina*, y luego de otras especies, como *Amanthia convoluta* que difieren básicamente en las diferentes cadenas lipídicas unidas al macrociclo. El aislamiento y la elucidación estructural de la bryostatina 1 fue una epopeya que duró más de veinte años debido a la baja concentración del compuesto en el bryozoo. La actividad del compuesto era tan potente que era posible detectar la actividad sin poder jamás aislar el compuesto activo. Fue necesario extraer mas de 100 kg de *Bugula neritina* para poder aislar solo 10 mg de bryostatina 1. Los ED₅₀ de las bryostatinas se encuentran en el rango de nanomolar o sub-nanomolar.

La acción fisiológica de las bryostatinas es muy variada, y permitiría el uso de estos compuestos para el tratamiento de fallas neoplásicas de médula ósea. También estimulan la activación y diferenciación de las células sanguíneas en pacientes crónicos con leucemia linfocítica. Además activan la proteína quinasa C (PKC) al igual que los ésteres de phorbol, pero induciendo solo unas pocas de las respuestas fisiológicas producidas por éstos últimos. La bryostatina 1 compite con los ésteres de phorbol en la interacción con PKC, pero contrariamente, inhibe la promoción de tumores en piel murina, y bloquea el efecto de los ésteres de phorbol en la diferenciación de las células HL-60 de leucemia pro mielocítica y eritroleucemia de Fried. También bloquea la liberación de metabolitos de ácido araquidónico inducida por ésteres de phorbol en fibroblastos de ratón. (Petit, 1991).

Alcaloides Indólicos y Pirrólicos:

Los alcaloides indólicos son los metabolitos más comunes en el *phylum* (ej. 146 – 147). Se los ha encontrado entre otros en los géneros *Flustra*, *Amanthia* y *Hinksino-flustra*. Algunas especies de bryozoos pueden producir alcaloides pirrólicos, como por ejemplo las tambjaminas (ej. 148), aisladas originalmente de moluscos nudibranquios del género *Tambje*. Estudios posteriores determinaron que estos compuestos eran de origen dietario, y la fuente fue identificada como especies de bryozoos del género *Sessibugula*.



8. TUNICADOS

Las especies pertenecientes al *phylum* Urochordata o Tunicata, si bien en apariencia parecen organismos primitivos como las esponjas, en realidad se encuentran en lo alto del árbol filogenético de los invertebrados. El cuerpo de un tunicado adulto es muy simple, y consiste básicamente de un saco con dos sifones a través de los cuales entra y sale el agua de mar, la cual es filtrada dentro del cuerpo. Sin embargo la mayor parte de los tunicados pasa por un estado larval, semejante a un renacuajo, capaz de nadar libremente y que exhibe todas las características de los cordados: posee una notocordia que no es otra cosa que una espina dorsal primitiva, aberturas faríngeas, ano y cola. Esta larva es libre para nadar hasta que en el caso de algunas clases de tunicados, se asienta sobre un sustrato y pierde su cola, su capacidad de movimiento y su sistema nervioso, transformándose en un organismo bentónico. Otras clases de tunicados, como las salpas, son pelágicas, es decir se encuentran flotando libremente en el mar.

El nombre de tunicados proviene de la túnica exterior que rodea las delicadas estructuras internas. Esta túnica, compuesta por polisacáridos similares a la celulosa, sustancias gelatinosas proteicas y agua, es generalmente dura y rugosa. Los tunicados poseen un rudimentario corazón, sangre y un sistema circulatorio. El corazón es una simple cámara peristáltica bipolar, bombeando sangre en una dirección por un tiempo (alrededor de 30 minutos) y luego en sentido contrario en patrones irregulares. Esto está controlado por estructuras que se parecen a un marcapasos doble. Los vasos circulatorios están divididos por una membrana que permite a la sangre fluir en una dirección o en otra. La sangre de los tunicados es de color verde amarillento.

Los tunicados son organismos filtradores de agua y poseen sistema digestivo. Uno de los sifones permite la entrada de agua mientras que el otro es de salida. El agua conteniendo las partículas de alimento es admitida por el sifón de entrada hasta la cavidad faríngea donde existen cilias que dirigen estas partículas hacia la cavidad estomacal en la cual se produce la digestión del alimento, transfiriéndose los productos de desecho hacia la abertura anal.

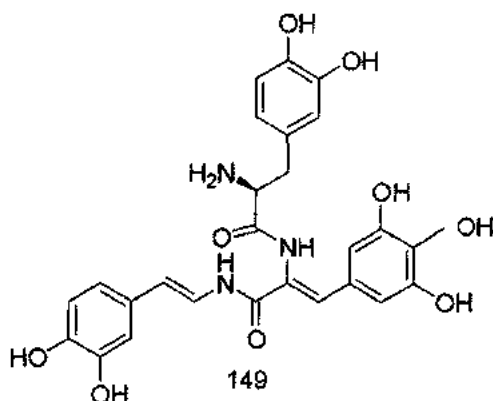
que desemboca en el sifón exhalante. Los tunicados bentónicos suelen filtrar hasta dos o tres litros de agua de mar por hora. Cuando se los molesta suelen contraerse provocando la expulsión de agua lo cual les ha granjeado el nombre habitual (en inglés) de “sea squirts”.

El *phylum* Urochordata comprende más de 2000 especies y está dividido en tres clases: Ascidiacea, Thaliacea y Larvacea. Los tunicados pertenecientes a la clase Ascidiacea (más de 1800 especies) o ascidias son organismos bentónicos y sésiles luego de su período larvario. Pueden ser organismos individuales o coloniales, de formas muy diversas, como globulares o cilíndricas. La clase Thaliacea, más conocida como salpas, comprende más de 70 especies, todas ellas pelágicas, las cuales forman cadenas fosforescentes de varios metros de longitud. La clase Larvacea, comprende alrededor de 70 especies, todas ellas planctónicas y de pequeño tamaño, no superando los 5 mm. La gran mayoría de los estudios químicos fueron realizados sobre organismos de la clase Ascidiacea.

A diferencia de lo que sucede con las esponjas donde la variedad de vías biosintéticas involucradas es muy grande, la mayor parte de los metabolitos secundarios aislados de tunicados son alcaloides, es decir compuestos nitrogenados, la mayoría de los cuales derivan de aminoácidos.

Tunicromos:

El interés de los químicos por las ascidias se originó en el color, particularmente en el color de la sangre de los tunicados. Ya en el siglo XIX había llamado la atención el cambio de color de verde a azul que ocurría en la sangre de tunicados por exposición al aire. Luego se descubrió que el color azul se debía a una alta concentración de vanadio y a la presencia de compuestos nitrogenados desconocidos. Inicialmente se pensó que podían ser proteínas (hemovanadinas), pero esta teoría fue luego desechada. Los pigmentos responsables de la acumulación de vanadio en sangre, denominados tunicromos, fueron aislados recién en 1985 debido a las dificultades en la purificación de los compuestos por su inestabilidad al aire (Bruening et al., 1986). Los tunicromos (ej. 149) son compuestos de origen peptídico y se cree que funcionan como agentes complejantes y reductores de metales. Los tunicromos (entre un 20 y 50% en peso seco de la sangre de diversas especies de ascidias) y el vanadio coexisten principalmente en ciertas células denominadas mórulas aunque pueden estar presentes en otras clases de células. La mayoría de los tunicados acumulan principalmente vanadio, niobio y hierro en sangre. Los tunicados asimilan V(V), y lo reducen para acumularlo como V(III) y V(IV). Resulta notable que la concentración de vanadio en sangre de tunicados es de hasta 10 millones de veces mayor que en agua de mar.



Metabolitos secundarios de Tunicados:

Desde un punto de vista estructural, los metabolitos aislados de tunicados pueden clasificarse de la siguiente manera:

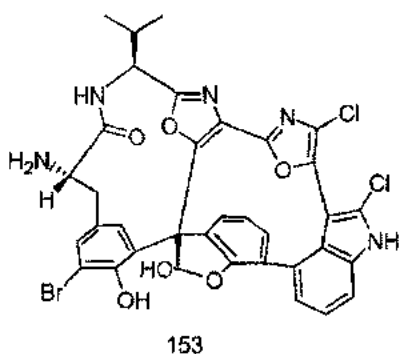
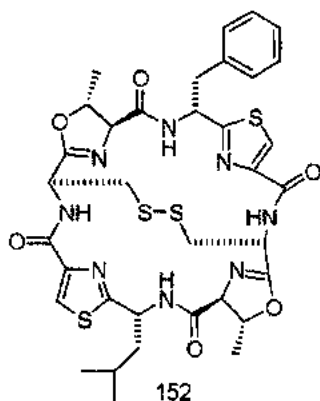
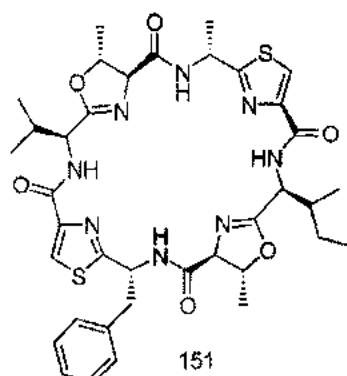
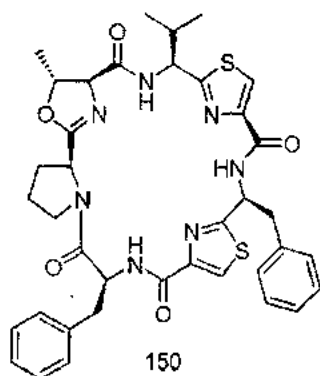
a) Compuestos Nitrogenados:

- Compuestos peptídicos
- Alcaloides aromáticos policíclicos.
- Derivados de triptofano.
- Derivados de lisina.
- Derivados de tirosina y fenilalanina.
- Otras clases de compuestos nitrogenados.

b) Compuestos no nitrogenados: menos del 10% de los compuestos bioactivos de tunicados pertenecen a esta clase.

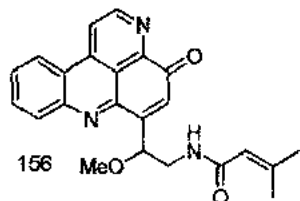
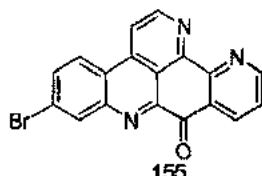
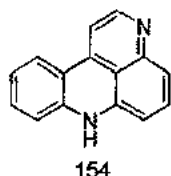
Compuestos Peptídicos:

Además de los tunicromos, compuestos peptídicos lineales que por su ubicuidad en el *phyllum* deberían ser considerados metabolitos primarios, los tunicados suelen producir una gran variedad de péptidos cíclicos, como por ejemplo las lisoclinamidas (heptapéptidos, ej. 150) y las patellamidas (octapéptidos, 151 - 152), compuestos con actividad antitumoral aislados de *Lisoclinum patella* (Sesin et al. 1986). Como característica remarcable de los péptidos cíclicos de tunicados, se encuentra la presencia de aminoácidos con anillos heterocíclicos de tiazol, tiazolina y oxazolina. Aún más notables son las diazonamidas (ej. 153), péptidos cíclicos aislados de *Diazona chinensis*, ya que poseen aminoácidos heterocíclicos clorados (Lindquist et al., 1991). Las diazonamidas presentaron actividad frente a la línea celular HCT-116 (cáncer de colon) con IC_{50} menor que 15 ng/mL. También fueron mencionadas previamente las didemnin (ej. 13), de *Didemnum sp.*, de potente actividad antitumoral y antiviral, y que llegaron a fase II en estudios clínicos.



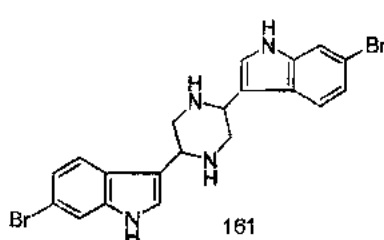
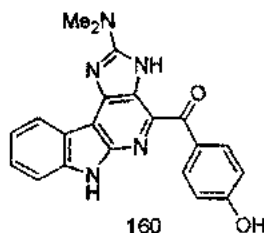
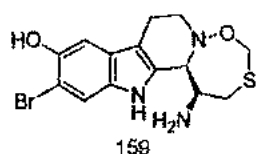
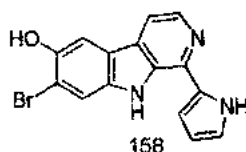
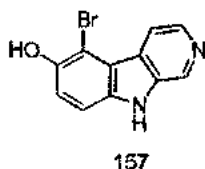
Alcaloides Aromáticos Policíclicos:

La mayor parte de estos metabolitos poseen esqueleto de pirido[k,l]acridina (154). Las ascididemninas (ej. 155) aisladas de *Leptoclinides sp.* y *Didemnum sp.* presentan actividad citotóxica frente a líneas celulares de leucemia con IC_{50} de 0.4 $\mu\text{g/mL}$. Además estimulan la liberación de calcio en el retículo sarcoplásmico con una potencia siete veces mayor que la cafeína. Las cystodistinas (ej. 156) son una familia de alcaloides aislados de *Cystodistes dellechiaiei* que poseen actividad contra leucemia LC1210 a 0.2 $\mu\text{g/mL}$ y también actividad liberadora de calcio (Kobayashi et al., 1988).



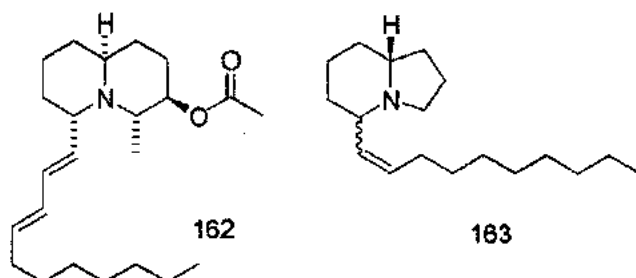
Metabolitos derivados de Triptofano:

Se han aislado de tunicados, numerosos alcaloides bioactivos de esta clase, en muchos de los cuales es posible reconocer al triptofano como tal, como un indol, o formando parte de sistemas cíclicos más complejos, como las carbolinas. Por ejemplo, las eudistominas (157 - 159) son compuestos β -carbolínicos aislados del tunicado *Eudistoma olivaceum*, que mostraron actividad antiviral contra HSV-1 a 5 ng/mL (Kobayashi et al., 1990). Las grossularinas (ej. 160) por su parte son derivados de α -carbolina aislados de *Dendrodoa grossularia* con actividad citotóxica frente a líneas de tumores sólidos de colon y mama a concentraciones de 10 ng/mL. También son relativamente frecuentes los derivados de 6-bromotriptamina, como el compuesto 161, aislado de *Didemnum candidum*.



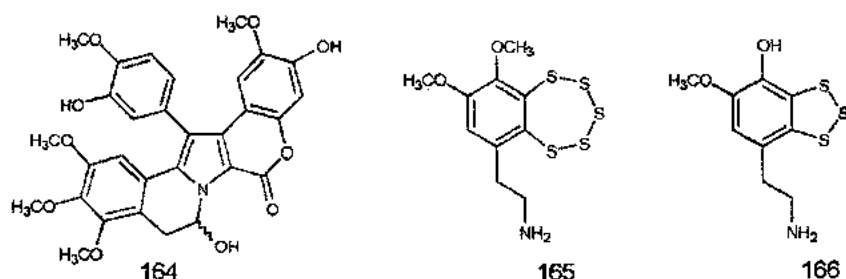
Metabolitos derivados de Lisina:

Son comunes los alcaloides quinolizidínicos e indolizidínicos en tunicados del género *Clavelina*, como por ejemplo los compuestos 162 - 163 aislados de *Clavelina picta* (Raub et al., 1991).



Metabolitos derivados de Tirosina y Fenilalanina:

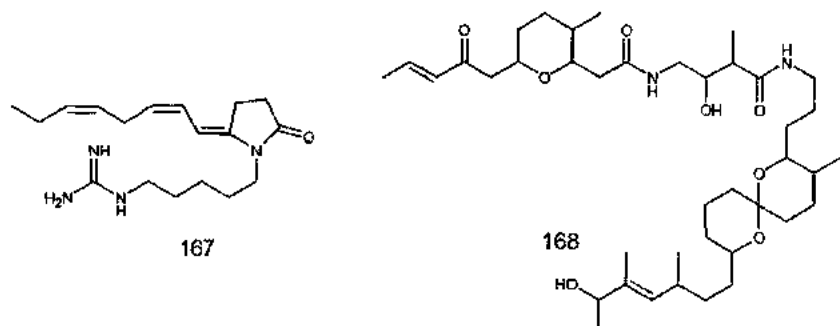
Los compuestos más importantes de este tipo tanto desde el punto de vista estructural como de actividad farmacológica son las ecteinascidinas aisladas de *Ecteinascidia turbinata* (15 -16). Estos compuestos además de tener potente actividad antitumoral (en fase II) también poseen actividad antiviral. En otros casos, varias unidades de tirosina forman un anillo pirrólico central totalmente sustituido como en el caso de las lamellarinas (164) compuestos antitumorales aislados de *Didemnum chartaceum*. El hecho de que compuestos de estructura similar hayan sido aislados de esponjas, sugiere un origen microbiano para los mismos. También fueron aislados de moluscos (*Lamellaria sp.*), pero en este caso se ha podido comprobar que se trata de compuestos de origen dietario. Otros compuestos bioactivos de estructura interesante son los polisulfuros cíclicos (ej. 165 – 166), sustancias con actividad antifúngica y antibiótica aislados de *Lissoclinum vareau* y *Lissoclinum perforatum*. Otros compuestos interesantes de esta clase fueron aislados de *Aplidium pliciferum*.



Metabolitos Nitrogenados Diversos:

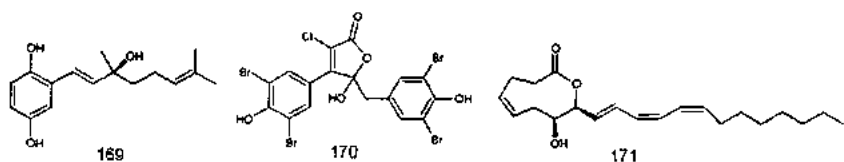
Existen toda una variedad de compuestos nitrogenados que no se puede englobar en las clases anteriores. Entre los más importantes encontramos las polyandrocarpidinas (ej. 167), una familia de compuestos compuestos cito-

tóxicos, antibióticos y con actividad antipredatoria aislados de *Poyandrocarpa* sp. (Cheng y Rinehart, 1978). Las bistramidas (ej. 168) son una serie de poliéteres cíclicos nitrogenados de *Lissoclinum bistratum*.



Compuestos no Nitrogenados:

Si bien no son tan abundantes como los alcaloides en tunicados, también se ha detectado una cantidad de compuestos no nitrogenados de estructuras diversas. Algunos ejemplos son los compuestos aromáticos simples con actividad antioxidante (ej. 169) aislados de *Amaroucium multiplicatum*, los rubrólidos, lactonas con actividad antibiótica y antipredatoria aisladas de *Ritterella rubra* y los ascidiatrienólidos, lactonas derivadas de ácidos grasos de *Didemnum candidum*.



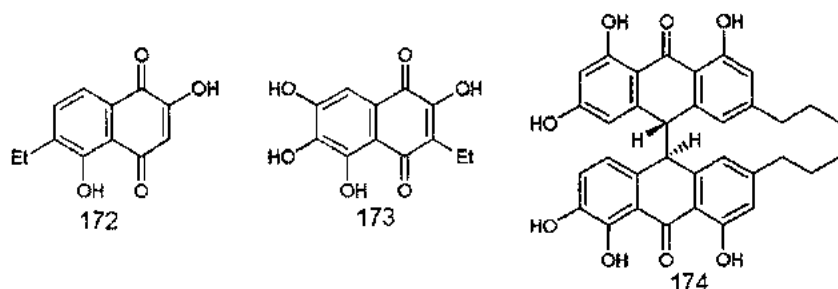
9. EQUINODERMOS

Este *phyllum* consta de cinco clases:

- Asteroidea o estrellas de mar.
- Ophiuroidea o "estrellas frágiles" (brittle stars).
- Crinoidea o lirios de mar.
- Echinoidea o erizos de mar.
- Holothuroidea o pepinos de mar.

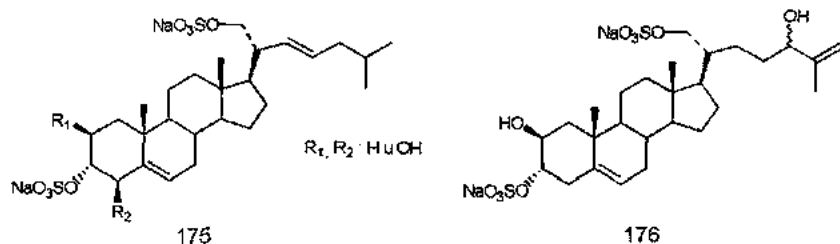
Erizos y Lirios de Mar:

Los primeros estudios químicos de equinodermos datan de los años 50 y 60, y se concentraron en los equinodermos más fácilmente recolectables y accesibles: los erizos de mar. Durante este período se identificaron una gran cantidad de pigmentos del tipo de las naftoquinonas, antraquinonas y relacionados (ej. 172 – 174). Estos compuestos son los únicos metabolitos secundarios informados en erizos y lirios de mar.



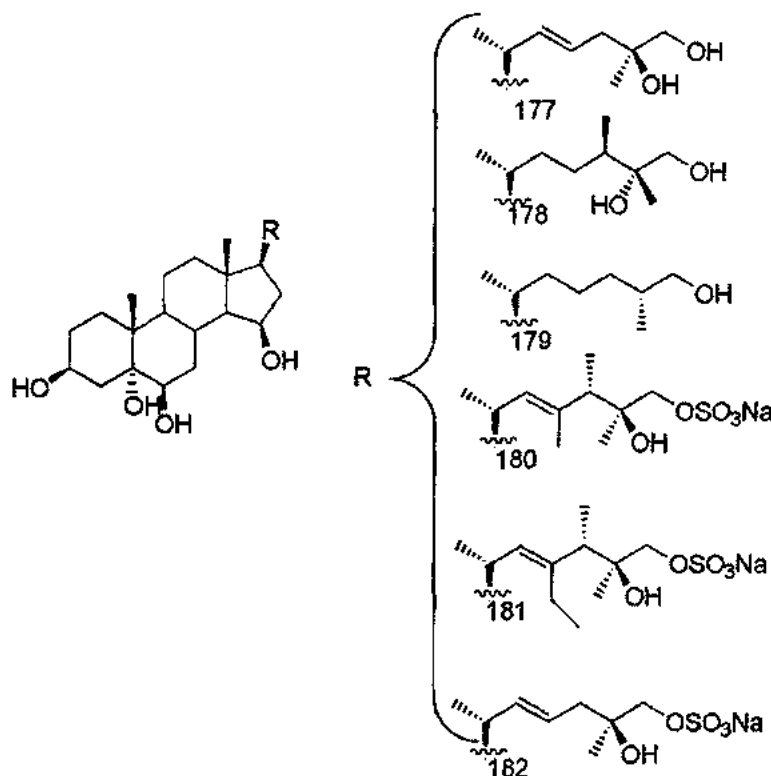
Ofiuros:

Los ofiuros se caracterizan por biosintetizar esteroides polihidroxilados, que además pueden tener grupos sulfato en varias posiciones. En particular una posición que suele presentar sustitución por grupos sulfato es el carbono 21 (ej. 175 – 176). Varios de estos compuestos presentaron actividad citotóxica y antiviral.



Estrellas de Mar:

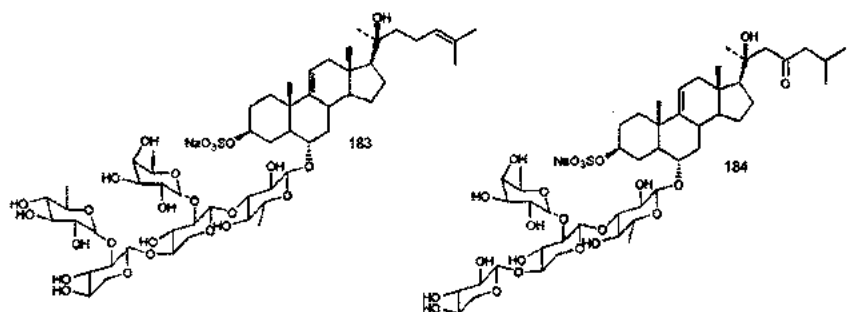
Esta clase de equinodermos ha sido muy estudiada, y en prácticamente todas las especies analizadas se ha encontrado algún compuesto nuevo. En general todas las estrellas de mar producen esteroides polihidroxilados y sulfatados (ej. 177 – 182), o saponinas esteroidales.



Las saponinas de estrellas de mar o asterosaponinas se caracterizan por tener una aglicona esteroidal polihidroxilada, generalmente derivada de 27 esteroides, y pueden dividirse en:

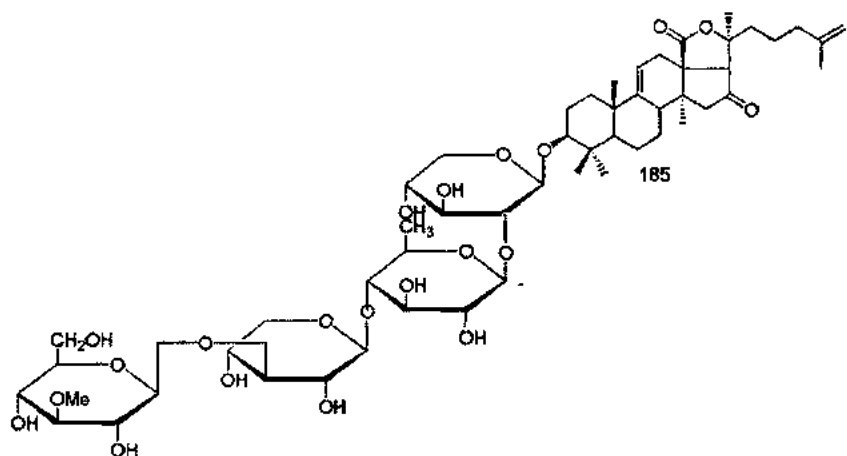
- Glicósidos de esteroides sulfatados con glicosidación en el anillo esteroidal (ej. 183 – 184).
- Glicósidos cíclicos de esteroides: similares a los anteriores, pero donde la cadena glicosídica se vuelve a unir al esteroide en otra posición (generalmente C-7) formando un ciclo.
- Esteroides O-glicosidados en la cadena lateral en C-24 (generalmente con mono o disacáridos).

En general las asterosaponinas pueden tener de uno a seis azúcares, las cadenas de azúcares pueden ser lineales o ramificadas, y suelen ser comunes los desoxiazúcares como fucosa.



Pepinos de Mar:

En los pepinos de mar, los compuestos son similares, solo que las agliconas suelen ser triterpenoidales (ej. 185)



En general tanto las asterosaponinas como las saponinas de pepinos de mar suelen ser demasiado tóxicas para los eritrocitos como para tener alguna actividad de utilidad farmacológica.

10. MOLUSCOS

El *phyllum* Mollusca incluye las clases:

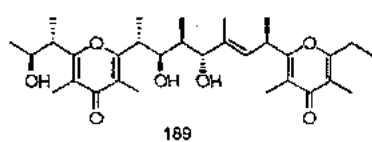
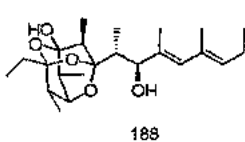
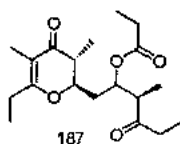
- Cefalópodos (pulpos, calamares)
- Bivalvos (almejas, ostras, etc.)
- Gasterópodos (“liebres de mar”, nudibranquios y pulmonados)

La mayor parte de los metabolitos secundarios han sido aislados de gasterópodos, ya que estos carecen de la defensa física de los bivalvos y de la movilidad y camuflaje de los cefalópodos. Los metabolitos suelen aparecer en especies sin concha, en muchas de las cuales las adaptaciones evolutivas han generado mecanismos de defensa química. En general se han encontrado metabolitos secundarios en todos los órdenes de la subclase de los opisthobranchios, aunque la mayor parte de ellos provienen de las "liebres de mar", los nudibranchios, y los sacoglossos. La mayor parte de estos moluscos suele tener una coloración característica y muy vistosa, como medio de indicar que cuentan con protección química ante eventuales predadores. También son importantes los compuestos de lapas (pulmonados).

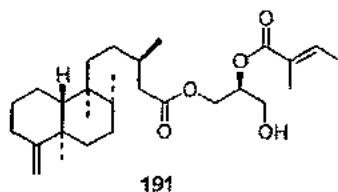
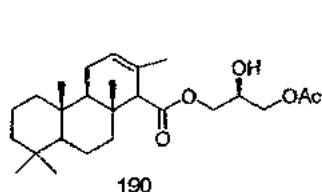
En el caso de los moluscos sin concha, la mayor parte de los compuestos hallados son de origen dietario. La dieta de cada especie de molusco es bastante específica y por lo tanto es posible rastrear el origen del metabolito involucrado. Las liebres de mar ("sea hares") se alimentan de algas rojas y pardas, mientras que los nudibranchios se alimentan principalmente de esponjas y en algunos casos de corales y anémonas. Se cree que muchos de estos compuestos incorporados con la dieta actúan como mecanismo de defensa antipredatorio. En algunos casos los moluscos metabolizan en el tracto digestivo los compuestos incorporados con la dieta, generando variaciones estructurales. En otros casos se ha demostrado que ciertas especies de moluscos pueden biosintetizar sus propias defensas químicas.

Entre los compuestos biosintetizados por moluscos se encuentran:

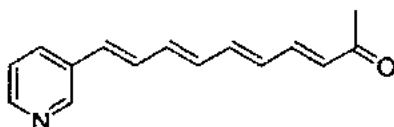
- Polipropionatos: típicos en pulmonados (lapas, monovalvos). Se ha aislado una gran variedad de estructuras tanto acíclicas como cíclicas con diferente grado de oxidación (ej. 187 – 189).



- Monoglicéridos de diterpenos: típicos de ciertos géneros de opisthobranchios, por ejemplo *Archidoris* sp.



• Alquenil-piridinas: en moluscos cephalaspideos (ej. 192), como *Navanax* sp. Estos compuestos suelen cumplir funciones de señal de alarma en el rastro que dejan estos moluscos sobre el fondo marino.



192

No se han detallado aquí los compuestos de origen dietario ya que son cientos y provienen de otros organismos ya descritos. En muchos casos se ha aislado un compuesto bioactivo de un molusco varios años antes de que fuera encontrado en su organismo productor. Esto se debe a que los moluscos sin valvas concentran los metabolitos secundarios en su tracto digestivo en varios órdenes de magnitud, y por lo tanto resultan mucho más fáciles de aislar. Otra de las causas puede ser que el organismo productor del metabolito secundario no resulte muy evidente debido a su pequeño tamaño y sea desechado durante las recolecciones.

11. BIBLIOGRAFIA

- ADAMCZESKI, M.; QUIÑO, E.; CREWS, P. Novel sponge derived amino acids 3. Unusual antihelminthic oxazoles from a marine sponge. *J. Am. Chem. Soc.*, v. 110, p. 1598 - 1602, 1988.
- BARROW, C.; BLUNT, J.; MUNRO, M.; PERRY, N. Oxygenated furanosesterterpene tetrionic acids from a sponge of the genus *Ircinia*. *J. Nat. Prod.*, v. 51, p. 1294-1298, 1988.
- BERGMANN, W.; BURKE, D. Contributions to the study of marine products XXXIX. Spongothymidine, and spongouridine. *J. Org. Chem.*, v. 20, p. 1501-1507, 1955.
- BLUNT, J.; HARTSHORN, M.; Mc LENNAN, T.; MUNRO, M.; ROBINSON, W.; YORKE, S. Thyrsiferol: a squalene-derived metabolite of *Laurencia thyrsifera*. *Tetrahedron Lett.*, p. 69-72, 1978.
- BRUENING, R.; OLTZ, E.; FURUKAWA, J.; NAKANISHI, K.; KUSTIN, K. Isolation of tunicchrome B-1, a reducing blood pigment from the tunicate *Ascidia nigra*. *J. Nat. Prod.*, v. 49, p. 193-204, 1986.
- BURRESON, B.; CHRISTOPHERSEN, C.; SCHEUER, P.J. Co-occurrence of two terpenoid isocyanide-formamide pairs in a marine sponge *Halichondria* sp. *Tetrahedron*, v. 31, p. 2015-2018, 1975.
- CAI, M.; JORDAN, P.C. How does vestibule surface charge affect ion conduction and toxic binding in a sodium channel? *Biophys. J.*, v. 57, 883-891, 1990.
- CHENG, M.; RINEHART, K. Polyandrocarpines: antimicrobial and cytotoxic agents from a marine tunicate, *Polyandrocarpa* sp. from the gulf of California. *J. Am. Chem. Soc.*, v. 100, p. 7409-7411, 1978.
- CIMINO, G.; DE STEFANO, F.; MINALE, L. Scalaradial, a third sesterterpene with the tetracarboxylic skeleton of scalarin, from the sponge *Cacospongia mollior*. *Experientia*, v. 30, p. 846-847.

- DE SILVA, D.E.; SCHEUER, P.J. Manoalide, an antibiotic sesterterpenoid from the marine sponge *Luffariella variabilis* (Polejaeff). *Tetrahedron Lett.*, p. 1611-1614, 1980.
- GUNASEKERA, S.; GUNASEKERA, M.; GUNAWARDANA, G.; Mc. CARTHY, P.; BURREN, N. Two new bioactive cyclic peroxides from the marine sponge *Plakortis angulospiculatus*. *J. Nat. Prod.*, v. 53, p.669-674, 1990.
- IGUCHI, K.; KANETA, S.; MORI, K.; YAMADA, Y.; HONDA, A.; MORI, Y. Marine natural products. Part XII. Chlorovulones, new halogenated marine prostanoids with antitumor activity from the stolonifer *Clavularia viridis*. *Tetrahedron Lett.*, p. 5787-5790, 1985.
- KATO, Y.; FUSEYANI, N.; MATSUNAGA, S.; HASHIMOTO, K. Calyculin A, a novel antitumor metabolite from the marine sponge *Discodermia calyx*. *J. Am. Chem. Soc.*, v. 108, p. 2780-2781, 1986.
- KEIFER, P.; SCHWARTZ, R.; KOKER, M.; HUGHES, R.; RITTSCHOFF, D.; RINEHART, K. Bioactive bromopyrrole metabolites from the Caribbean sponge *Agelas conifera*. *J. Org. Chem.*, v. 56, p. 2965-2975, 1991.
- KOBAYASHI, J.; CHENG, J.; OHTA, T.; NOZOE, S.; OHIZUMI, Y.; SASAKI, T. Eudistomins B, C and D, novel antileukemic alkaloids from the Okinawan tunicate *Eudistoma glaucus*. *J. Org. Chem.*, v. 55, p. 3666-3670, 1990.
- KOBAYASHI, J.; CHENG, J.; WALCH, M.; NAKAMURA, H.; HIRATA, Y.; SASAKI, T.; OHIZUMI, Y. Cystoditins A, B, and C, novel tetracyclic aromatic alkaloids with potent antineoplastic activity from the Okinawan tunicate *Cystodytes dellechiaiei*. *J. Org. Chem.*, v. 53, p. 1800-1804, 1988.
- KOHMOTO, S.; Mc. CONNELL, O.; WRIGHT, A.; KOEHN, F.; THOMPSON, W.; LUI, M.; SNADER, K. Puupehenone, a cytotoxic metabolite from a deep water marine sponge *Strongylophora hartmani*. *J. Nat. Prod.*, v. 50, p. 336-339, 1987.
- LINDQUIST, N.; FENICAL, W.; VAN DUYN, G.; CLARDY, J. Isolation and structure determination of diazonamides A and B, unusual cytotoxic metabolites from the marine ascidian *Diazona chinensis*. *J. Am. Chem. Soc.*, v. 113, p. 2303-2304, 1991.
- LOOK, S.; FENICAL, W.; JACOBS, R.; CLARDY, J. The pseudopterosins: anti-inflammatory and analgesic natural products from the sea whip *Pseudopterozorgia elisabethae*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, v. 83, p. 6238-6240, 1986.
- MINALE, L.; RICCIO, R.; SODANO, G. Avarol, a novel sesquiterpenoid hydroquinone with a rearranged trimane skeleton from the sponge *Dysidea avara*. *Tetrahedron Lett.*, p. 3401-3404, 1974.
- MOORE, R.; BARTOLINI, G.; Structure of palytoxin. *J. Am. Chem. Soc.*, v. 103, p. 2491-2494, 1981.
- MUNRO, M.; LUIBRAND, R.; BLUNT, J. The search for antiviral and anticancer compounds from marine organisms. In: SCHEUER, P. J. (ed.). *Bioorganic Marine Chemistry*. New York: Springer, 1987. v. 1, p. 93-136.
- MURATA, M.; LEGRAND, A.; ISHIBASHI, Y.; FUKUI, M.; YASUMOTO, T. Structures of ciguatoxin and its congener. *J. Am. Chem. Soc.*, v. 111, p. 8929-8931, 1986.
- PERRY, N.; BLUNT, J.; MUNRO, M. Cytotoxic pigments from New Zealand sponges of the genus *Latrunclia*: discorhabdins A, B and C. *Tetrahedron*, v. 44, p. 1727-1734, 1988.
- PETIT, G. The bryostatins. In: HERZ, W.; KIRBY, G.; STEGLICH, W.; TAMM, Ch.,

- (ed.). *Progress in the Chemistry of Organic Natural Products*. Berlin: Springer, 1991. v. 57, p. 153-195.
- PETIT, G.; HERALD, C.; DOUBEK, D.; HERALD, D. Isolation and structure of bryostatin 1. *J. Am. Chem. Soc.*, v. 104, p. 6846-6848, 1982.
- PETIT, G.; INOUE, M.; KAMANO, Y.; HERALD, D.; ARM, C.; DUFRESNE, C.; CHRISTIE, M.; SCHMIDT, J.; DOUBEK, D.; KRUPA, T. Antineoplastic agents 147. Isolation and structure of the powerful cell growth inhibitor cephalostatin 1. *J. Am. Chem. Soc.*, v. 110, p. 2006-2007, 1988.
- PORDESIMO, E.; SCHMITZ, F.J. New bastadins from the sponge *Ianthella basta*. *J. Org. Chem.*, v. 55, p. 4704-4709, 1990.
- RAUB, M.; CARDELLINA, J.; CHOUDHARY, I.; LI, C.; CLARDY, J.; ALLEY, M. Clavipictins A and B, cytotoxic quinolizidines from the tunicate *Clavelina picta*. *J. Am. Chem. Soc.*, v. 113, p. 3178-3180, 1991.
- RINEHART JR., K.; GLOER, J.B.; COOK, J.C.; MISZAK, S.; SCAHILL, T. Structures of the didemnins, antiviral and cytotoxic depsipeptides from a Caribbean tunicate. *J. Am. Chem. Soc.*, v. 103, p. 1857-1859, 1981.
- RINEHART JR., K.; HOLT, T.; FREGEAU, N.; STROH, J.; KEIFER, P.; SUN, F.; LI, L.; MARTIN, D. Ecteinascidins 729, 743, 745, 759A, 759B and 770: potent antitumor agents from the Caribbean tunicate *Ecteinascidia turbinata*. *J. Org. Chem.*, v. 55, p. 4512-4515, 1990.
- ROESENER, J.; SCHEUER, P.J. Ulapualide A and B, extraordinary antitumor macrolides from nudibranch egg masses. *J. Am. Chem. Soc.*, v. 108, p. 846-847, 1986.
- SAKAI, R.; HIGA, T.; JEFFORD, C.; BERNARDINELLI, G. Manzamine A, a novel antitumor alkaloid from a sponge. *J. Am. Chem. Soc.*, v. 108, p. 6404-6405, 1986.
- SARIN, P.; SUN, D.; THORNTON, A.; MULLER, W. Inhibition of replication of the etiologic agent of acquired immune deficiency syndrome (human T-lymphotropic retrovirus/lymphadenopathy-associated virus) by avarol and avarone. *J. Natl. Cancer Inst.*, v. 78, p. 663-666.
- SESIN, D.; GASKELL, S.; IRELAND, C. The chemistry of *Lissoclinum patella*. *Bull. Soc. Chim. Belg.*, v. 95, p. 583-867, 1986.
- SHIMIZU, Y.; CHOU, H.; BANDO, H.; DUYNE, G.; CLARDY, J. Structure of brevetoxin A (GB-1 toxin), the most potent toxin in Florida Red Tide organism *Gymnodinium breve* (*Ptychodiscus brevis*). *J. Am. Chem. Soc.*, v. 108, p. 514-515, 1986.
- TACHIBANA, K.; SCHEUER, P.J.; TSUKITANI, Y.; KIKUCHI, H.; VAN ENGEL, D.; CLARDY, J.; GOPICHAND, Y.; SCHMITZ, F.J. Okadaic acid, a cytotoxic polyether from two marine sponges of the genus *Halichondria*. *J. Am. Chem. Soc.*, v. 103, p. 2469-2472, 1981.
- WEINHEIMER, A.; SPRAGGINS, R. The occurrence of two new prostaglandin derivatives (15-*epi*-PGA₂ and its acetate, methyl ester) in the gorgonian *Plexaura homomalla*. *Tetrahedron Lett.*, p. 5185-5188, 1969.

12. LECTURAS SUGERIDAS

- ATTAWAY, D.H.; ZABORSKY, O.R. *Marine Biotechnology, v.1: Pharmaceutical and Bioactive Natural Products* New York: Plenum, 1993.
- BERGQUIST, P. *Sponges*. Berkeley: University of California, 1978.
- DAVIDSON, B.S. Ascidians: producers of amino acid derived metabolites. *Chem. Rev.*, v.93, p.1771-1791, 1993.

- DIETZMAN, G.R. The marine environment as a discovery resource. In: DEVLIN, P. J., (ed.). *High throughput screening. The discovery of bioactive substances*. New York: Marcel Dekker, 1997.
- FAULKNER, D.J. Interesting aspects of marine natural products chemistry. *Tetrahedron*, v.33, p.1421-1443, 1977.
- FAULKNER, D.J. *Marine natural products*. v.3, p.1-33, 1986 y recopilaciones anuales posteriores en la misma revista.
- FAULKNER, D.J. Marine natural products: metabolites of marine algae and herbivorous marine mollusks. *Nat. Prod. Rep.*, v.1, p. 251-280, 1984
- FAULKNER, D.J. Marine natural products: metabolites of marine invertebrates. *Nat. Prod. Rep.*, v.1, p. 551-598, 1984.
- FUSETANI, N.; MATSUNAGA, S. Bioactive sponge peptides. *Chem. Rev.*, v.93, p.1793-1806, 1993.
- GARSON, M.J. The biosynthesis of marine natural products. *Chem. Rev.*, v.93, p.1699-1733, 1993.
- GERWICK, W.H. Carbocyclic oxylipins of marine origin. *Chem. Rev.*, v.93, p.1807-1823, 1993.
- MOLINSKI, T.J. Marine pyridoacridine alkaloids: structure, synthesis and biological activity. *Chem. Rev.*, v.93, p.1825-1838, 1993.
- PAWLIK, J.R. Marine invertebrate chemical defense. *Chem. Rev.*, v.93, p.1911-1922, 1993.
- SCHEUER, P.J. *Chemistry of Marine Natural Products*. New York: Academic, 1973.
- SCHEUER, P.J. (ed.) *Bioorganic Marine Chemistry*. Berlin: Springer, 1988. v. 1-4
- SCHEUER, P.J. (ed.) *Marine Natural Products. Chemical and Biological Perspectives*. New York: Academic, 1977. vol. 1-5.

ÍNDICE REMISSIVO

- aaptamina, estrutura e ocorrência 1021
abacateiro 329
abutua 329
acácia 633
açafraão 329
acetanos 500
acetato de miricila
 metabolismo vegetal 423
 ocorrência 464
 protótipo químico 411, 525, 540
acetildigoxina 699
acetogeninas, metabolismo vegetal 431
ácido abscísico, estrutura 471
ácido acético 581, 597
ácido alfa-guaiacônico 571
ácido alginico 500
ácido anacárdico 388
ácido anísico 521
ácido aráquico 460
ácido araquidônico 461
ácido aristolóquico, toxicidade 249
ácido ascórbico, chá-da-india 899
ácido benzóico
 ocorrência...526, 581
 precursor biogenético 520, 521
ácido betulinico
 atividade 132
 cultivo biotecnológico 131
 estrutura 132
ácido butírico 581
ácido caféico
 estrutura 522
 ocorrência 528, 530, 581
 quimiotaxonomia 526
ácido 3-O-cafeoilquinico 523
ácido 4-O-cafeoilquinico 523
ácido 5-O-cafeoilquinico...523
ácido 1,3-O-dicafeoilquinico 523
ácido canabidiólico, ocorrência 924
ácido canabinólico, ocorrência 924
ácido chicórico 524
ácido chiquímico, precursor biogenético 412,
 468, 525, 540
ácido cinâmico
 metabolismo vegetal 418, 468, 562
 precursor biogenético 520, 528
ácido cítrico, metabolismo vegetal 424
ácido clorogênico
 atividade 528
 estrutura 523
 marcador taxonômico 526
 ocorrência 523, 530, 897, 898
ácido criptoclorogênico 523
ácido cumárico, metabolismo vegetal 422
ácido o-cumárico, estrutura e ocorrência 523,
 551
ácido p-cumárico
 estrutura 522
 metabolismo vegetal 468
 ocorrência 581, 584
ácido di-hidroguaiarético 563, 571
ácido 3,4-dimetóxi-benzóico 521
ácido elágico, estrutura e ocorrência 521, 526
ácido equinocístico 733
ácido erúico 461
ácido esteárico
 biogênese 441
 estrutura e ocorrência 439, 460
ácido fenilacrilico 523
ácido ferúlico, estrutura e ocorrência 522,
 526, 581, 584
ácido fitolacagênico 733
ácido galacturônico 582
ácido gálico
 atividade 96
 biogênese 625
 estrutura 522
 metabolismo vegetal 96
 ocorrência 524, 526, 581, 899
ácido gentísico 521
ácido gincólico
 efeito alergênico 387
 ocorrência 388
ácido gipsogênico 733
ácido glicirrético 725
ácido glicirrizico 725
ácido glicurônico 582
ácido guaiarético 569, 571
ácido p-hidróxi-benzóico
 estrutura 522
 identificação 525
 ocorrência 522, 581
ácido hidróxi-cinâmico 584
ácido p-hidróxi-cinâmico 538
ácido 2-hidróxi-propionico 581
ácido hipocárpico, precursor 149
ácido ibotênico
 estrutura 949
 mecanismo de ação 950
ácido isoclorogênico 523
ácido isofenílico 581
ácido junafítico 558

- ácido linoléico, estrutura e ocorrência 439, 460, 461
 ácido linolênico, ocorrência 460, 461, 513
 ácido lisérgico
 atividade 835, 928
 emprego industrial 834
 estrutura 922
 ocorrência 940
 dietilamida,
 estrutura 922
 mecanismo de ação 938
 protótipo farmacológico 928
 ácido mevalônico 469
 ácido 2-metilbutírico 581
 ácido *p*-metóxi-benzóico 521
 ácido mirístico 460, 461
 ácido neoclorogênico 523
 ácido nicotínico
 estrutura 436
 biogênese 426
 ácido nordi-hidroguaiarético 566, 567
 ácido ocaído, estrutura e ocorrência 1020, 1021
 ácido oleanólico 571, 728
 ácido oleico, estrutura e ocorrência 439, 460, 461
 ácido oxálico
 ocorrência 964
 toxicidade 964
 ácido palmítico, estrutura e ocorrência 439, 460, 461
 ácido protocatéquico 521, 525
 ácido quilaico 733
 ácido químico 581
 ácido quinico 524
 ácido ricinoléico
 elucidação estrutural 443
 ocorrência...459
 ácido rosmarínico 524, 526
 ácido salicílico 521, 529
 ácido sinápico 522, 581
 ácido síringico 522
 ácido succínico 581
 ácido tartárico 524
 ácido tiglico 581
 ácido tetraidrocannabinólico, ocorrência 924
 ácido 3,4,5-trimetóxi-benzóico 521
 ácido trópico
 cultivo de tecidos 797
 estrutura 797
 metabolismo vegetal 426
 ácido undecilênico 459
 ácido vanílico 521, 525
 ácido verátrico 521
 ácidos fenólicos
 bioatividade 528
 biogênese 525
 distribuição e quimiotaxonomia 525
 obtenção, detecção e identificação 527
 propriedades gerais 520, 526
 ácidos fosfatídicos 436
 ácidos graxos
 biogênese 424, 431, 440
 metabolismo vegetal 431
 nomenclatura 439
 ocorrência 964, 1012
 toxicidade 964
 acilfloroglucinóis, estrutura e ocorrência 1006
 acônito
 farmacopéia 333
 marcador quimiotaxonômico 769
 acetoideo 266
 adaptógeno 113
 adjuvantes farmacêuticos
 critério de escolha 294, 295
 especificação 295
 adulterantes
 beladona 808
 cocaina 814
 determinação 290
 ginseng 36
 macela 271
 aflatoxina, determinação 277
 afzelequina, biogênese 628
 ágar-ágar 501
 agaróide 501
 agatisflavona, estrutura 594
 agente enteógeno, definição 930
 agliconas, metabolismo vegetal 412
 agrotóxico
 atividade 280
 classificação 280
 contaminante 280
 definição 280
 aiapana 863
 ajmalicina
 atividade 820, 831
 emprego farmacêutico 841
 estrutura 822
 ocorrência 837, 840, 842
 ajmalina
 efeito adverso 841
 estrutura 840
 ajoeno, atividade 755
 albumina bovina sérica (ABS) 638
 alcachofra
 atividade 350
 constituente 524
 cultivo 55, 58

- farmacopéia 333
- monografia 529
- propagação sexuada 58
- alcaçuz
 - atividade 342, 530, 726
 - constituente 723
 - farmacopéia 333
 - monografia 725
- alcalóides
 - ação inseticida 904, 910
 - atividade 766, 921
 - bioatividade 94, 96, 97, 767, 787
 - biogênese 412, 767, 769
 - caracterização 238, 273
 - coca, classificação 800
 - classificação 766, 921
 - cultivo biotecnológico 134
 - defesa na herbivoria por insetos 14
 - definição 765
 - deteção 781
 - dissuasórios alimentares 97
 - doseamento
 - gravimetria e volumetria 785
 - emprego farmacêutico 14
 - estabilidade 783
 - estruturas 773
 - etnofarmacologia 110
 - ergô, atividade 921
 - extração 232, 314, 782
 - fluido supercrítico 783
 - procedimento 782
 - função vegetal 82
 - iboga
 - biogênese 945
 - ocorrência 945
 - ipeca 124
 - maracujá 609
 - marcador taxonômico 84, 85, 86
 - metabolismo vegetal 412, 417, 425
 - ocorrência 14, 15, 124, 381, 417, 609, 800, 921, 945
 - protótipo farmacológico 379
 - reagentes gerais 781
 - toxicidade 96, 766, 787, 960
 - vinca 381
- alcalóides benzil-isoquinolínicos, biogênese 417
- alcalóides bis-quinolizidínicos, estrutura e ocorrência 1021
- alcalóides bromopirrolínicos, estrutura e ocorrência 1019
- alcalóides esteroides
 - ação inseticida 881, 911
 - atividade 881
 - biogênese 870
 - classificação 872
 - definição 869
 - doseamento 786
 - gravimétrico 880
 - mecanismo de ação 869
 - toxicidade 869, 880
- alcalóides indólicos
 - artefatos 826
 - atividade 820, 829
 - biogênese 412, 819, 823
 - classificação 819, 820
 - deteção 781, 825
 - doseamento 786, 829
 - elucidação estrutural 820
 - estabilidade 828
 - mecanismo de ação 829
 - ocorrência 86, 819, 824, 931, 1029
 - procedimento de extração 825
 - toxicidade 829
- alcalóides indolizidínicos, estrutura e ocorrência 1034
- alcalóides isoquinolínicos
 - biogênese 137, 417
 - cultivo biotecnológico 128
 - doseamento 786
 - extração 783
 - ocorrência 934
- alcalóides macrociclopeptídicos, biogênese 772
- alcalóides peptídicos, ocorrência 1018
- alcalóides pirrolínicos, ocorrência 1029
- alcalóides pirrolizidínicos
 - atividade 859
 - biogênese 426, 848
 - classificação 852
 - definição 847
 - doseamento 786
 - estabilidade 853
 - estrutura 852
 - extração 854
 - mecanismo de ação 861
 - ocorrência 848
 - toxicidade 847, 848, 859
- alcalóides quinazolinínicos, biogênese 772
- alcalóides quinolínicos
 - biogênese 412, 772
 - ocorrência 824
- alcalóides quinolizidínicos
 - biogênese 426
 - doseamento 786
 - estrutura 1035
 - ocorrência 1034
- alcalóides terpeno-indólicos
 - atividade 132
 - biogênese 137

- alcalóides tropânicos
 atividade 804
 biogênese 137, 425
 classificação 793
 definição 793
 detecção 802
 doseamento 786, 803
 efeito colateral 805
 extração 783
 mecanismo de ação 804, 921
 ocorrência 767, 798, 952, 978
 protótipo farmacológico 794
 toxicidade 806, 978
- alcanina
 estrutura e ocorrência 668, 669
- álcool cinâmico 562
 álcool di-hidrocinamílico 558, 568
 alcólatura, definição 308
 aldeído cinâmico 528
- alecrim
 atividade 490
 cultivo 53, 55, 58
 constituente 524
 farmacopéia 332
 moagem 312
 origem geográfica 18, 48
 propagação assexuada 58
- alelopatia
 definição 82, 128
 cafeína 889
 ipeca 128
 7-metil-juglona 666
 óleos voláteis 473
 quinona 666
- aletrina, ação inseticida 904
- aleurina, análise 271
- alfa-amanitina, estrutura e ocorrência 947, 949
- alfa-amirina 717
- alfa-L-oleandrose 690
- alfa-peltatina 570
- alfa-pineno, estrutura e ocorrência 471, 474
- alfa-terpineol, estrutura 471
- alfa-tujona 474
- alfafa 342, 723
- alfavaca
 atividade 490
 cultivo 58
 propagação assexuada 58
- algas
 constituente 1004
 pardas, constituinte 1005
 verdes, constituinte 1005
 vermelhas, constituinte 1008
- algina 500
- alginato 501
- algodoeiro
 constituente 911
 reprodução 36
- alho
 atividade 746, 752, 753
 biodisponibilidade 754
 constituente 742, 744
 cromatografia gasosa 266
 cromatografia líquida de alta eficiência 266
 doseamento 266
 estudo clínico 754
 farmacopéia 332
 interação medicamentosa 755
 mecanismo de ação 753, 754
 monografia 752
 toxicidade 489, 755
- alho-poró, constituinte 744
- alicina
 doseamento 747
 estabilidade 747
 mecanismo de ação 753
- alina
 atividade 752, 755, 730
 doseamento 266
 estabilidade 747
 ocorrência 742, 744
- alilfenol 562
- alizarina
 detecção 665
 emprego industrial 668
 estrutura 669
 ocorrência 657
- aloe 333, 342, 676
- aloecmodina
 atividade 668
 emprego industrial 668
 estrutura 669
 toxicidade... 670
- aloina
 atividade 669
 estabilidade 664
 isomerização 664
- alolignana 558
- alporquia 58
- alteia
 monografia 511
 moagem 311
- alucinógenos, classificação 920
- amanita
 constituente 947
 monografia 947
 toxicidade 947, 948
- amentoflavona, estrutura 594

- amido
 - adjuvante farmacêutico 301
 - análise 271
 - composição 502
 - ocorrência 502, 895, 896
- amilopectina 502
- amilose 502
- aminoácidos, extração 314
- aminoácidos não protéicos
 - função vegetal 82
 - marcador taxonômico 86
- aminopregnano, definição 872
- âmio, monografia 549
- amostra final, procedimento 267
- amostra para análise, procedimento 267
- amostragem
 - definição 266
 - procedimento 267
- anabasina
 - bioatividade 904
 - estrutura 910
- análise
 - agrotóxico 280
 - chumbo 282
 - metais pesados 281
- análise fitoquímica
 - esquema geral 236
 - preliminar 109, 234
 - objetivo 229
 - Stas-Otto 236
- análise macroscópica
 - definição 270
 - procedimento 270, 271
- análise organoléptica ver análise sensorial
- análise quantitativa ver dosamento
- análise sensorial
 - definição 269
 - procedimento 269
- analanina, ocorrência 934
- anetol, biogênese e ocorrência 418, 480, 491
- angélica, monografia 550
- angelicina 539
- angiospermas
 - classificação 75
 - definição 80
- angulatina, estrutura e ocorrência 912, 913
- anis 358
- anisaldeído
 - ocorrência 526
 - emprego industrial 529
- anis-estrelado
 - atividade 487
 - constituente 418, 473
- antecotulideo, contaminante 266
- antioxidante, lipídeo 458
- anti-sense genes* 137
- antocianidinas
 - atividade 604
 - definição 584
- antocianinas, função vegetal 82
- antocianos, definição...583
- antranóides, definição 659
- antranol, estrutura 659
- antraquinonas
 - atividade 669
 - caracterização 238
 - estrutura 1037
 - marcador quantitativo 282
 - metabolismo vegetal 419
 - ocorrência 385, 1037
- antripsina, biofármaco 40
- antrona
 - atividade 277
 - deteção 665
 - estrutura 659
- antúrio, toxicidade 962
- aparelho de Soxhlet 234
- apigenina
 - atividade 603
 - estrutura e ocorrência 582, 583
- apoptropina, ocorrência 798
- apocárdia 81
- araticum, constituinte 473
- arbutina, estrutura e ocorrência 532
- arctigenina 568
- área física, planejamento 297
- areotoniina, estrutura e ocorrência 1014, 1015
- armazenamento
 - beladona 808
 - cáscara-sagrada 277
 - cuidados 62, 265, 294
 - hortelã 270
 - marcela 270
- arnica
 - ensaio de pureza 274
 - farmacopéia 333
- arnica-mexicana, contaminante 274
- aroeira
 - caracterização genética 66
 - origem geográfica 49
 - preservação da espécie 339
 - toxicidade 972
- aroeira-brava
 - constituente 972
 - toxicidade 971
- arraste por vapor d'água, procedimento 283
- arruda
 - bioatividade 112
 - origem geográfica 48

- artefato de extração, formação 664, 847
 artemetina, atividade 603
 artemisinina
 atividade 148
 estereoquímica 375
 estrutura 148
 ascidiatrienolideo, ocorrência 1036
 ascididenina, estrutura e ocorrência 1034, 1033
 asiaticosídeo 721, 724, 732
 assa-peixe, cultivo 49
 asterossaponinas
 classificação 1038
 estrutura e ocorrência 1038, 1039
 atividade farmacológica
 adaptógena
 ginseng 728
 ginsenosídeos 728
 adstringente
 polifenóis 93, 97
 taninos 93, 97
 alucinógena
 3,4-metileno-dióxido-
 metanfetamina 155
 MDMA 155
 amebocida
 cefalina 124
 emetina 124, 787
 ipeca 124
 analgésica 15
 ansiolítica
 cava 390
 cavalactonas 390
 antialérgica 15
 iangambina 567, 568
 antiarritmica
 cratego 642, 643
 antibiótica 14
 alcalóides esteróides 881
 aliina 752
 barbatimão 644
 carvacrol 492
 compostos com enxofre 741
 discorabdinina 1021
 gingibre 351
 mostarda 749
 óleo de hortelã-pimenta 491
 óleo de menta 491
 pitangueira 644
 ratânia 641
 taninos 629
 timol 492
 tomatina 881
 anticoagulante
 fucanos 502
 didemninas 1032
 varfarina 544
 anticolinérgica
 alcalóides tropânicos 804
 atropina 787, 804
 escopolamina 787, 804, 808, 810
 hiosciamina 787, 808, 810
 anticonvulsivante
 iangambina 567, 568
 lactonas 112
 antidepressiva
 erva-de-são-jão 392
 hiperforina 393, 547
 hipérico 392
 paroxetina 155
 xantonas 546
 antidiarréica
 pitangueira 644
 antiedematogênica
 cephalostatinas 630
 hamamélis 639, 640
 antiemética
 nabilona 928
 naftoquinonas 927
 THC 927, 928
 antienxaquecosa
 ergotamina 834
 antiespasmódica 15
 beladona 808
 escopoletina 545
 estramônio 810
 iangambina 567, 568
 meimendro 812
 óleo de tomilho 492
 trombeteira 811
 antiestresse
 ginseng 728
 ginsenosídeos 728
 antifúngica
 alcalóides esteróides 881
 aloe-emodina 668
 batata 881
 carvacrol 492
 chacolina 881
 fisciona 668
 mostarda 749
 pitangueira 644
 reina 668
 solanina 881
 taninos 629
 timol 492
 tomatina 881
 anti-helmíntica
 bengamidas 1022
 anti-hepatotóxica

- desmetilvelolactona 126
- velolactona 126
- antigutosa
 - topotecano 787
- anti-hipertensiva
 - alho 746, 752, 753
 - protopetrina A 787
 - reserpina 787, 839-841
- antileucêmica
 - fisalinas 136
 - vimblastina 14
 - vincristina 14
- antiinflamatória 15
 - ácido betulínico 132
 - alcaçuz 726
 - antocianidinas 604
 - apigenina 603
 - artemetina 603
 - barbatimão 644
 - gengibre 351
 - cefalostatinas 630
 - escalaradial 1016
 - hamamélis 639, 640
 - luteolina 603
 - manoalido 1003
 - naftoquinonas 927
 - pitangueira 644
 - pseudopterinas 1003
 - saponinas 723
 - tormentila 641
 - vogonina 603
- antileucêmica
 - cistodistinas 1033
 - esteganacina 567, 568
- antimalárica
 - ácido betulínico 132
 - artemisinina 148
 - pitangueira 644
 - quinina 787
 - mostarda 749
- anti-miotóxica
 - velolactona 127
- antimitótica
 - colchicina 380
 - podofilina 380
 - podofilo 570
 - podofilotoxina 380
- antimutagênica
 - chá-da-índia 899
 - hamamélis 639, 640
- antimáusea
 - gengibre 351
- antioxidante
 - ácido gálico 96
 - aluna 755
- canferol 603
- chá-da-índia 899
- cumarinas 545, 546
- equinatina 603
- hamamélis 639, 640
- licochalconas 603
- 4-nerolidilcatecol 133
- miricetina 603
- morina 603
- taninos 629
- tormentila 641
- antiparkinsoniana
 - bromocriptina 835
- antiprotosoária
 - diospirina 668
- antipsicótica 116
- antisecretora
 - beladona 808
 - estramônio 810
 - meimendo 812
 - trombeteira 811
- antisséptica
 - óleo de eucalipto 490
 - óleo de tomilho 492
 - uva-ursina 532
- antiúlcera
 - alcaçuz 726
 - polifenóis 94
 - taninos 94
- antitrombótica
 - fucanos 502
- antitumoral 14
 - aaptaminas 1021
 - ácido betulínico 132
 - alho 746, 752, 753
 - aluna 730, 755
 - biochanina A 604
 - brássica 751
 - bristatina I 1002
 - camptotecina 382, 787
 - cefalostatinas 1003
 - chá-da-índia 899
 - diazonamidas 1032
 - 6,8-diidroxi-benziltaxifolina 604
 - 4',7"-di-O-metil-amentoflavona 604
 - diospirina 668
 - discorabbinas 1021
 - docetaxel 384
 - ecteinascidinas 1002
 - etoposídeo 155, 381
 - galangina 604
 - genisteína 604
 - glicosinolatos 751
 - grossularinas 1034
 - 8-hidroxi-benziltaxifolina 604

- ipê-roxo 117
- irinotecano 383
- jaceosidina 605
- lapachol 117, 677
- lissoclinamidas 1032
- manzaminas 1021
- 7"-O-metil-robustoflavona 604
- naftoquinonas 658
- paclitaxel 14, 149, 382, 383, 384
- patelamidas 1032
- podofilotoxina 567, 568
- taninos 629
- teniposideo 381
- tirsiferóis 1010
- topotecano 383
- unha-de-gato 117
- vimblastina 14, 381, 787, 842
- vinca 381
- vincristina 14, 381, 787, 842
- vindesina 382
- vinorelbina 382, 842, 843
- antitussígena
 - codeína 787
 - noscápina 787
- antiúlcera
 - alcaçuz 726
 - barbatimão 644
- antiviral 14, 15
 - ácido betulínico 132
 - arctigenina 567, 568
 - avarol 1017
 - avarona 1017
 - baicaleína 602
 - calanolídeos 546
 - castanospermina 787
 - conocurvona 657
 - crisofanol 668
 - dideminas 1032
 - 3,3'-dimetilquercetina 602
 - diosmina 602
 - eudistominas 1034
 - flavonóides 601
 - glicoproteína B 40
 - hamamelis 639, 640
 - hepatite B 40
 - hesperidina 602
 - 3-O-metilquercetina 602
 - quercetina 602
 - saponinas 723
 - taninos 96, 629
- broncodilatadora
 - quelina 537
 - teofilina 892, 894
- cardiovascular
 - caféina 892
 - digitálicos 685, 696
 - digoxina 686, 696
 - estrofanto 706
 - ouabaina 706
 - proscillaridina A 707
 - quinidina 787
- carminativa
 - óleo de tomilho 492
- cicatrizante
 - asiaticosídeo 732
 - cefalostatinas 630
 - centela 732
- colerética
 - alcachofra 530
- colinérgica
 - fisostigmina 836
- diurética
 - estrofanto 706
 - pitangueira 644
 - teobromina 787, 892
 - teofilina 787, 892
- doença de Alzheimer
 - fisostigmina 378
 - galantamina 378, 787
- doenças degenerativas
 - compostos com enxofre 741
 - gínco 389
- emética
 - cefalina 124
 - cila 707
 - emetina 124
 - ipeca 124
 - emetina 787
- esquistossomicida
 - surinamensina 567
- espasmolítica
 - óleo de hortela-pimenta 491
 - óleo de menta 491
- estimulante uterino
 - ergometrina 834
- expectorante
 - cefalina 124
 - cila 707
 - emetina 124
 - ipeca 124
 - óleo de eucalipto 490
 - óleo de tomilho 492
- gastroprotetiva
 - calêndula 731
 - hipérico 731
 - gengibre 351
- hepática
 - cardo-santo 572
 - cumestanos 126
 - caapeba 133

- pariparoba 133
- silimarina 572, 573
- vacinas orais 40
- hipnoanalgésica
 - morfina 787
- hipnótica
 - cava 390
- hipocolesterolêmica
 - alho 746, 752, 753
 - polissacarídeos 508
 - quilaia 733
 - saponinas 723
- hipoglicemiante 15
- calêndula 731
- hipérico 731
- pectinas 505
- pitangueira 644
- hipolipidêmica
 - escoparona 545
- hipotensora
 - ostol 545
 - barbatimão 644
 - escoparona 545
 - pitangueira 644
- hipotireoideana
 - glicosinolatos 751
- hormonal
 - isoflavonas 606
- imunomoduladora
 - alho 746, 752, 753
 - escoparona 545
 - hipérico 724, 731, 733
 - naftoquinonas 927
 - quilaia 733
- inibidora da agregação plaquetária 754
 - alho 746, 752, 753
 - gincolídeos 389
 - iangambina 567, 568
- laxativa
 - aloe 676
 - aloina 669
 - antraquinonas 669
 - cáscara-sagrada 673
 - lapachol 671
 - plantago 511
 - ruibarbo 675
 - sene 671
- miiorrelaxante
 - tubocurarina 787
- moluscicida
 - taninos...96, 629
- neuroprotetora
 - naftoquinonas 927
- osteoporose
 - ipriflavona 606
 - isoflavonas 606
- protetora capilar
 - rutina 605
- queratolítica
 - podofilo 570
- sedativa
 - cavalactonas 390
- Sistema Nervoso Central
 - cafeína 787, 892, 893
 - cocaína 814
 - teofilina 892
- simpatomimética
 - efedrina 787
- terapia de dependentes químicos
 - ibogaina 831-832
- tripanomicida
 - alcalóides 132
 - feiterinha 132
 - pitangueira 644
 - primina 667
- vasodilatadora
 - cafeína 892
 - estrofanto 706
 - quelfina 537
 - varfarina 546
- atividade ótica, determinação estrutural 244
- atropina
 - atividade 182, 787, 804, 386
 - bioatividade 787
 - biogênese 794
 - efeito colateral 805
 - emprego farmacêutico 806
 - estabilidade 800, 801
 - estrutura 795
 - mecanismo de ação 114, 375, 377
 - ocorrência 793
 - toxicidade 766
- atrocina, racemização 800
- avarol, estrutura e ocorrência 1017
- avarona, estrutura e ocorrência 1017
- axano, estrutura e ocorrência 1020
- aucubina 266
- aurapteno 539
- aurona
 - definição 586
 - nomenclatura 586
- auto-isenção 336, 355
- automedicação 248
- autopatia, definição 82
- auxina 126, 135
- avaliação da segurança 249
- avaliação microbiológica, procedimento 279
- ayahuasca
 - monografia 941
 - toxicidade 944

- azeite de oliva 461
- azadiractina
ação inseticida 913, 915
atividade 913
estrutura 913
ocorrência 906, 912
- azulenos 482, 488
- babosa, monografia 675
- badiana 333
- baicaleína, atividade 602
- baicuru, nomenclatura 219
- balãozinho, cultivo biotecnológico 135
- bálsamo 329, 332
- banana 502
- banana-de-macaco, toxicidade 962
- banco de dados 109
- banco de germoplasma 34
- barba-de-velho, reprodução 36
- barbatimão
atividade 644
constituintes 643
extrato liofilizado 644
farmacologia 644
monografia 643
- basilicão 490
- bastadina, estrutura e ocorrência 1014, 1015
- batata
atividade 881
constituente 502, 768, 871, 876
- batata-doce 528
- batata-inglesa
classificação 218
constituente 502, 524, 715
- BAW ver butanol - ácido acético-água
- bengamida, estrutura e ocorrência 1022
- bengazóis, estrutura e ocorrência 1022
- beladona
adulterante 808
armazenamento 808
atividade 804, 808
constituente 952
doseamento 785
efeito adverso 809
emprego farmacêutico 806
estabilidade 808
farmacopéia 333
marcador 282
mecanismo de ação 794
moagem 311
monografia 807
toxicidade 766, 787
- benzofurano, bioatividade 915
- benzopirano, bioatividade 915
- benzoquinona, ocorrência 664
- bergamoteira 473
- bergapteno, estrutura 914
- beta-amirina 717
- beta-bisaboleno 427
- beta-lapachol, atividade 667
- beta-peitatina 570
- beta-pineno 474
- beta-selineno, estrutura 472
- beta-sitosterol 571
- betaina 583
- beterraba 723
- bi flavonas, ocorrência 388
- bi flavonóide
definição 593
nomenclatura 593
- bilobalideo, ocorrência 388
- biochanina, atividade 604
- biodisponibilidade, flavonóides 606
- biodiversidade
definição 13, 32
importância estratégica 100, 113, 124, 212, 290, 995
protótipo químico 45
qualidade 46
- bioensaio 379
- biofarmaco
agrião 40
arroz 40
arroz-dourado 41
batata 40
canaola 40
definição 40
fumo 40
procedimentos 39
- biogênese 423, 431
- ácido benzóico 520
- ácido chiquímico 412, 468, 525, 540
- ácido cinâmico 520, 528
- ácido cumárico 422, 468
- ácido esteárico 441
- ácido gálico 96, 625
- ácido nicotínico 426
- ácidos fenólicos 525
- ácidos graxos 424, 431, 440
- afzelequina 628
- alcalóides 412, 767, 769
- alcalóides benzil-isoquinolínicos 417
- alcalóides esteróides 870
- alcalóides indólicos 412, 819, 823
- alcalóides isoquinolínicos 137, 417
- alcalóides macrociclopeptídicos 772
- alcalóides pirrolizidínicos 426, 848
- alcalóides quinazolinínicos 722
- alcalóides quinolínicos 412, 772
- alcalóides quinolizidínicos 426
- alcalóides terpeno-indólicos 137

- alcalóides tropânicos 137, 425
 anetol 418
 atropina 794
 cafeína 772
 cardenolídeos 686
 casuarictina 626
 casuarina 626
 catequinas 628
 chalconas 585
 chiconina 662
 cocaína 794
 codeína 418
 cumarinas 148, 419, 523, 538
 efedrina 417
 elagitânicos 626
 emetina 824
 ergometrina 824
 ergotamina 824
 escopolamina 426, 794
 estrictosamina 823
 eugenol 418
 filoquinona 662
 flavanonas 587
 flavonóides 96, 137, 140, 421, 578
 galotaninos 626
 geraniol 469
 glicosídeos cianogénicos 425, 427
 glicosinolatos 425, 427, 744
 harmalo 824
 harmina 942
 heliosupina 684
 heterosídeos cardioativos 429, 686
 4-hidróxi-3-metóxi-benzilamina 531
 higrina 425
 hiosciamina 426, 794, 797
 ibogaína 945
 juglona 662
 laussona 662
 leucopelargonidina 626
 lignóides 419, 561
 limonóides 912
 mescalina 418
 metilxantinas 772, 887
 morfina 415
 necina 848
 nicotina 767
 óleos voláteis 429
 papaverina 418
 pedunculagina 626
 polissacídeos 498
 propelargonina 628
 pseudoalcalóides 772
 psilocibina 931
 psilocina 931
 quimidina 417
 quinina 417
 quinonas 419, 662
 saponinas 429
 saponinas esteoidais 713
 secologanina 823
 senecionina 851
 taninos 625, 412
 taninos condensados 422, 628
 taninos hidrolisáveis 412, 625
 teilmabrandina 626
 teobromina 772
 terpenóides 140, 469
 triptamina 823
 vimblastina 417, 823
 vincristina 417, 823
 vindolina 823
 biogeografia 94, 98
 bioinformática 139
 biologia molecular 76
 biopirataria 25
 bioprospecção 25
 bioquinona, definição 663
 biossíntese vegetal 403
 biotecnologia 123
 bisabolol, ocorrência 290
 bistramida, estrutura e ocorrência 1036
 Boas Práticas Agrícolas 346
 Boas Práticas Clínicas 250
 Boas Práticas de Distribuição 346
 Boas Práticas de Fabricação 269, 293, 346
 Boas Práticas de Manipulação 293
 boldo
 cultivo 58
 doseamento 785
 moagem 311
 propagação assexuada 58
 boldo-do-chile 329, 358
 borragem, monografia 863
 brássica
 atividade 751
 monografia 750
 brevetoxina, estrutura e ocorrência 999
 briarano, estrutura e ocorrência 1025
 briófitas, classificação 75, 78
 briostatinas
 atividade 1002
 estrutura e ocorrência 1002, 1029
 mecanismo de ação 1029
 brócolis, constituinte 742
 bromofenóis, estrutura e ocorrência 1011, 1012, 1018
 brucina, estrutura e ocorrência 838
 bucha
 constituente 977
 toxicidade 976

- bufadienolídeo 688, 707
- bufotenina, estrutura 949
- bulgarsenina, ocorrência 852
- burchelina 563
- butanol-ácido acético-água, cromatografia em
 - camada delgada 597
- buteína, atividade 602
- caapeba, atividade 133
- caapiá 339
- cabiramida, ocorrência 1000
- cacau
 - história 886
 - monografia 895
 - tanino 622
- café
 - constituente 523, 885, 894
 - escolha do solvente de extração 898
 - história 886
 - monografia 897
- cafeína
 - alelopatia 889
 - associação com codeína 893
 - atividade 787, 892, 893
 - biogênese 772
 - cacau 896
 - café 897, 898
 - chá-da-índia 899
 - complexo com tanino 636, 890
 - cromatografia líquida de alta
 - eficiência 892
 - doseamento 785
 - doseamento gravimétrico 890
 - erva-mate 897
 - extração 891
 - estrutura 886
 - mecanismo de ação 893
 - noz-de-cola 895
 - ocorrência 886, 895, 896, 897, 898, 899
 - síndrome de retirada 894
 - toxicidade 893
- cafeinismo 894
- cafestol, atividade 894
- calanolídeo 545, 546
- calcitonina, biofarmaco 40
- calêndula
 - atividade 731
 - constituente 490, 723
 - cultivo 58
 - moagem 311
 - monografia 730
 - origem geográfica 48
 - propagação sexual 58
- caliculina, estrutura e ocorrência 1020, 1021
- calistegina, ocorrência 798
- calos 131
- calosina, ocorrência 852
- calozeloxantona 547
- camapu, cultivo biotecnológico 135
- cambará 339
- campanha
 - atividade 921, 939
 - investigação etnofarmacológica 940
 - monografia 938
 - toxicidade 940
- camomila
 - análise microscópica 272
 - atividade 487, 488, 490
 - bisabolol 266
 - colheita 61
 - constituente 266
 - contaminante 266, 276
 - controle biológico 60
 - cultivo 58
 - estabilidade 477
 - história 329
 - moagem 311
 - óleo volátil 266
 - propagação sexual 58
 - segurança 342, 358
- camomila-romana
 - contaminante 266
 - nomenclatura 222
- campotecina,
 - atividade 787
 - estrutura 383
 - mecanismo de ação 383
- cana-de-açúcar
 - cultivo biotecnológico 139
 - transcriptoma 139
- cana-do-brejo 339
- canabidiol
 - atividade 924, 927
 - estrutura 925
- canabinóide endógeno, ocorrência 926
- canabinóides
 - atividade 924
 - classificação 924
 - estrutura 925
 - ocorrência 924
- canabinol, estrutura e ocorrência 924, 925
- canalização evolutiva 96
- canela
 - atividade 487
 - constituente 473, 528
 - segurança 342
- canela-amarela, caracterização genética 66
- canela-do-ceilão 333, 490
- canela-sassafrás, cultivo 52
- canema, constituinte 473
- canferol

- atividade 387, 603
- efeito mutagênico 608
- estrutura e ocorrência 582, 583
- cânfora
 - atividade 487
 - estrutura 471
 - história 329
 - ocorrência 474
 - toxicidade 489
- canforeira 487
- capim-cidrao ver capim-limão
- capim-limão
 - constituente 473, 487
 - cultivo 55, 58
 - registro 358
- capsaicina,
 - atividade 531
 - estrutura e ocorrência 529, 531
- capsaicinóide 531
- cápsico, monografia 531
- cápsulas
 - definição 303
 - embalagem 303
 - formulação 303
 - procedimento 303
 - gineco 387
- caracterização farmacognóstica 264
- caracterização química
 - estudo pré-clínico 253
 - critérios 273
 - Stas-Otto, marcha sistemática 235
- caraguatã, reprodução 36
- carbenoxolona 724
- cardamomo 490
- cardenólidos
 - definição 688
 - biogênese 686
 - ocorrência 703
- cardo-de-leite ver cardo-santo
- cardo-mariano ver cardo-santo
- cardo-santo, monografia 571
- carinatól 558
- cariofileno, estrutura 472
- caroteno 583
- carqueja
 - cultivo 49, 51, 58, 65, 67
 - farmacopéia 332
 - origem geográfica 48
 - registro 358
 - reprodução 36
- carragenano 501
- carvacrol 482, 492
- carvona
 - estrutura e ocorrência 471, 482
- cáscara-sagrada
 - atividade 673
 - constituente 277
 - emprego farmacêutico 669
 - farmacopéia 333
 - monografia 673
- castanheira-da-índia 723
- castanospermina, atividade 787
- casuarictina
 - biogênese 626
 - estrutura 617
- casuarina, biogênese 626
- catalpol 266
- catarantina, ocorrência 382
- catecol 529
- catequinas
 - biogênese 628
 - estereoquímica 622
 - guaraná 896
 - metabolismo 606
- catinga-de-mulata
 - etnofarmacologia 112
 - constituente 474
- catuaba 332
- cauda-de-cavalo, constituinte 867
- cava
 - atividade 390
 - ensaios clínicos 391
 - mecanismo de ação 390
 - monografia 359
 - biodisponibilidade 390
- cavalactonas
 - atividade 390
 - farmacocinética 390
- cavalinha
 - cultivo 54
 - moagem 312
- caveol, atividade 894
- caxeta, caracterização genética 66
- cebola, constituinte 744
- cedência
 - controle 292
 - influência da formulação 300
- cederlona, estrutura e ocorrência 913, 914
- cedro, caracterização genética 66
- cefalina
 - atividade 124, 128
 - estrutura 124
- cefalostatina, estrutura e ocorrência 1003
- celenamida, estrutura e ocorrência 1018
- célula, organização celular vegetal 406
- celulose
 - adjuvante farmacêutico 377
 - descrição 503
- cembranólidos, estrutura e ocorrência 1024, 1025

- cembreno, estrutura e ocorrência 1024, 1025
 centeio
 contaminante 929
 constituente 832
 centela
 atividade 732
 monografia 732
 centrifugação, procedimento 319
 Centro de Informações Toxicológicas,
 listagem 984
 ceprina, estrutura e ocorrência 1019
 ceras
 cera de carnaúba 464
 definição 463
 ceramidas 436
 cerbetigenina 690
 cevadina, estrutura 910
 cevantina, estrutura 879
 chá-da-india
 atividade 528, 899
 constituente 581, 894
 cultivo 887, 894
 história 886
 monografia 899
 chá-de-bugre, nomenclatura 222
 chá-preto 899
 chá-verde
 atividade 630
 obtenção 899
 chaconina
 estrutura 876
 atividade 881
 chacrana, constituinte 942
 chanoclavina, estrutura 941
 chalconas
 biogênese 585
 definição 584
 isomerização 585
 nomenclatura 579
 chalepsina 539
 chapéu-de-couro
 cultivo 52, 53, 67
 registro 338
 chapéu-de-napoleão, monografia 708
 charuto-do-rei, toxicidade 961
 chave de identificação botânica 223
 chiconina
 biogênese 662
 cultivo de células 668
 estrutura e ocorrência 668, 669
 chocolate, constituinte 622, 894
 cianidina, estrutura 621
 ciclo de transformação, definição 293
 ciclo reprodutivo 80
 ciclotariciresinol 558
 cicloprotobuxina, estrutura 880
 cicuta
 contaminante 277
 toxicidade 766, 959
 cidrão
 cultivo 66
 origem geográfica 49
 ciguatoxina, estrutura e ocorrência 999
 cila
 atividade 691, 707
 monografia 707
 cilarina A 707
 cilarinina 690
 cimarol 702
 cimicífuga 342
 cinamaldeído 489
 cinamomo, constituinte 912
 cinarina, estrutura e ocorrência 524
 cinaropierina 530
 cinchonina 636
 cineol 490
 1,8-cineol
 bioatividade 474
 ocorrência 468, 480, 482
 cinerina, estrutura 908
 cinoglossa, monografia 864
 cipó-abuta, cultivo 52
 cipó-cruzeiro, cultivo 66
 cipó-imbé, toxicidade 965
 cipó-jucá 112
 cipó-mil-homens
 constituente 249
 toxicidade 249
 cistodistina, estrutura e ocorrência 1033,
 1034
 citocina, definição 126
 citral 482, 488
 citroflavonóides 608
 citronelal 474
 citros, monografia 551, 608
 clarificação, definição 319
 classificação botânica
 cuidados 216
 definição 212, 334
 importância 97, 328
 classificação, pós 312
 clavina, atividade 940
 clavularano, estrutura e ocorrência 1025
 clionamida, estrutura e ocorrência 1018
 clonagem 39, 126, 138
 cloricromeno 545
 coca
 atividade 920
 cultivo 812
 emprego farmacêutico 329

- extração industrial 783
- monografia 812
- cocaína
 - adulterante 814
 - atividade 814
 - biogênese 794
 - deteção 803
 - emprego farmacêutico 807
 - estabilidade 801
 - estrutura 793
 - identificação 813
 - mecanismo de ação 814, 893
 - obtenção 801
 - ocorrência 793, 794, 799
 - protótipo farmacológico 377
 - toxicidade 814
- codeína
 - associação com cafeína 893
 - atividade 387, 787
 - biogênese 418
 - farmacopéia 329
 - ocorrência 386
- Codex Medicamentarius Gallicus* 327
- códon 41
- coentro
 - atividade 490
 - constituente 475
 - cultivo 59
 - farmacopéia 332
- cogumelos mágicos
 - atividade 930
 - constituente 930
 - toxicidade 930
- cola, monografia 895
- colchicina
 - atividade 380, 787
 - mecanismo de ação 380
 - ocorrência 386, 765
- colchico 333
- colesterol 436
- coleta
 - espíndheira-santa 61
 - marcela 61
 - procedimentos 61, 212, 229, 264
 - variação química 266
- colheita vegetal ver coleta
- colza
 - constituente 742
 - toxicidade 751
- comigo-ninguém-pode
 - constituente 964
 - mecanismo de ação 965
 - toxicidade 961, 962, 964
- cominho 490
- composto com enxofre
 - atividade 741
 - bioatividade 741
 - classificação 741
 - definição 741
- compostos de enxofre cíclicos, estrutura e ocorrência 1035
- comprimidos
 - definição 304
 - embalagem 304
 - formulação 304
 - pelculados, definição 304
- conceito de espécie 217
- concentração, procedimento 320
- conessina, estrutura 874
- confrei
 - monografia 864
 - registro 338, 348
 - toxicidade 249, 348, 864
- coniina
 - extração por arraste de vapor 785
 - identificação 277
 - ocorrência 960
 - toxicidade 960
- conocurvona, ocorrência 657
- conservação do ecossistema 47
- conservação genética
 - importância 17
 - procedimentos 21, 34
- consórcio de plantas 53
- Constituição Brasileira de 1988 18
- contaminação biológica
 - controle 276
 - camomila 275
- contaminação microbiológica
 - armazenamento 279
 - limite 279
 - secagem 279
- contaminação química, erva-doce 277
- contraprova 269
- controle de processamento, protocolo 284
- controle de processo 263, 297
- controle de qualidade
 - biológico 275
 - documentação 284
 - microbiológico 279, 294
 - processo 292
 - produto final 292
 - protocolo 284, 294
 - químico 277, 282
- convalária, monografia 708
- convulotóxina 708
- Convenção da Biodiversidade ver Convenção da Diversidade Biológica
- Convenção da Diversidade Biológica 18, 21, 25, 47, 117, 118

- convergência evolutiva, definição 85
 copaiba, cultivo 52, 117
 copo-de-leite, toxicidade 962, 965, 966
 corda-de-viola, atividade 921
 coroa-de-cristo, constituinte 962, 968
 corte histológico, procedimento 271
 costela-de-adão, toxicidade 962, 965, 966
 cratego
 atividade 642
 estudos clínicos 643
 farmacologia 642
 farmacopéia 333
 monografia 642
 cravo-da-índia 418
 p-cresol 529
 criptoresinol 558
 crisântemo, constituinte 908
 crisofanol, atividade 668
 cromatografia de adsorção 240
 cromatografia em camada delgada 239, 274
 preparativa 241
 quantitativa 242
 ácido betulínico 133
 alcalóides 781
 alcalóides esteroidais 880
 alcalóides indólicos 825, 826, 828
 alcalóides pirrolizidínicos 854
 alho 748
 análise qualitativa 275
 atropina 803
 beladona 803, 808
 cúestano 128, 136
 escopolamina 803
 estramônio 803
 flavonóides 597
 glicosinolatos 746
 lipídeos 444
 meimendo 803
 metilxantinas 890
 procedimento 239
 quinonas 664
 taninos 635
 cromatografia circular, flavonóides 598, 599
 cromatografia em coluna 241
 alcalóides indólicos 826
 flavonóides 599
 lipídeos 444
 taninos 635
 cromatografia em contra-corrente,
 quinonas 664
 cromatografia eletrocinética micelar
 escopolamina 803
 hiosciamina 803
 hitorina 803
 cromatografia de exclusão 240
 cromatografia de filtração molecular 240
 cromatografia gasosa 240, 274
 alcalóides 786
 alcalóides esteroidais 880
 análise de pesticida 281
 flavonóides 599
 glicosinolatos 746, 747
 lipídeos 444
 cromatografia gasosa acoplada à
 espectrometria de massas 240, 379
 alcalóides 786
 alcalóides indólicos 828
 alcalóides pirrolizidínicos 854
 glicosinolatos 747
 cromatografia líquida, classificação 240
 cromatografia líquida a vácuo 241
 cromatografia líquida de alta eficiência 241,
 274
 ácido betulínico 133
 alcalóides 786
 alcalóides esteroidais 880
 alcalóides indólicos 827, 828
 alcalóides pirrolizidínicos 854
 análise quantitativa 283
 caféina 892
 desmetilvelolactona 128
 flavonóides 598, 599
 glicosinolatos 746
 lipídeos 444
 mescalina 934
 metilxantinas 890, 892
 4-nerolidilcatecol 134
 pesticidas 281
 quinonas 666
 taninos 636
 velolactona 128
 cromatografia líquida de alta eficiência
 acoplada à espectrometria de massas 239,
 379
 alho 747
 alcalóides 786
 alcalóides indólicos 828
 alcalóides pirrolizidínicos 855
 hiosciamina 803
 cromatografia líquida de alta eficiência
 acoplada à espectrometria de ressonância
 magnética nuclear 239, 379
 alcalóides 786
 cromatografia líquida de alta eficiência
 acoplada à espectroscopia no
 ultravioleta 379
 cromatografia líquida de contra corrente,
 tanino 636
 cromatografia líquida de média pressão 241
 flavonóides 599

- taninos 636
- cromatografia líquida em contra-corrente, alcalóides pirrolizidínicos 856
- cromatografia em papel 239, 274
 - flavonóides 598
 - glicosinolatos 746
- cromatografia de partição 240
- cromatografia de troca iônica 240
 - alcalóides 783
 - sinigrina 747
- cromeno, ação inseticida 915
- cromonas 537, 539
- C-toxiferina, ocorrência 838
- cubebina 568
- cultivo agrícola
 - alelopatia 128
 - estratégia 124
 - importância 46
 - ipeca 117, 213
- cultura de células
 - chiconina 668
 - estratégia 130
 - fonte de compostos bioativos 138
- cultura de tecidos 131
 - ácido trópico 797
 - escopolamina 797
 - fonte de compostos bioativos 130
- cumarinas
 - atividade 544, 546
 - biogênese 148, 419, 523, 538
 - caracterização 237
 - definição e classificação 537
 - estruturas 539
 - guaco 129
 - metabolismo vegetal 419
 - ocorrência e distribuição 15, 290, 541
 - propriedades, extração e caracterização 542
 - terminologia e classificação 538
- cumaru 537
- cumaru-de-cheiro 339
- cumestanos, atividade 126
- cupressoflavona, estrutura 594
- curare
 - atividade 249, 838
 - constituente 838
 - toxicidade 766
- curchamida, estrutura 874
- cúrcuma 473
- curtimento 615
- cuscoigrina, ocorrência 794, 799
- dahlgrenograma 100
- daidzeína, atividade 605
- dalbergiona 593
- dalbergionina, estrutura e ocorrência 663, 664
- dama-da-noite
 - bioatividade 473
 - constituente 978
 - toxicidade 977
- damascenina, ocorrência 772
- Declaração de Helsinki 250
- declaração de produto 302, 307
- Decretos
 - 79/1977 977
 - 98830/1990 339
- Decreto Lei
 - 750/1993 67
 - 986/1969 342
- dedaleira ver digital
- degradação enzimática 62
- delfimidina, estrutura 621
- demetilpodofilotoxina 570
- demissina, estrutura, 876
- densitometria 275
- dente-de-leão, origem geográfica 48
- 10-desacetil-bacatina III, protótipo 384
- desalcoolização, definição 320
- desenvolvimento tecnológico 289
- desmetilvedololactona
 - atividade 126
 - estrutura 127
- desmetóxi-iangonina, mecanismo de ação 389
- desóxi-podofilotoxina 570
- 3-desóxi-silibina 572
- destilação azeotrópica
 - procedimento 278
 - teor de umidade 278
- dextranos 499
- diantrona, atividade 277
- diazonamidas, estrutura e ocorrência 1032, 1033
- dicroísmo circular, taninos 636
- dicumarol
 - atividade 544
 - estrutura e ocorrência 539, 544, 551
 - toxicidade 551
- didenaína, estrutura e ocorrência 1001, 1002, 1032, 1033
- difração de raios X
 - quinonas 665
 - elucidação estrutural 244
 - saxitoxina 998
- digital
 - farmacopéia 333
 - moagem 311
 - monografia 703
- digital-de-flor-amarela 703
- Digitalis* ver digital
- digitanol 694

- digitoxigenina 691
- digitoxina
 atividade 249, 698
 ocorrência 373, 386, 701
 estrutura 689, 704
 extração 692
 propriedades físico-químicas 692, 698
- digoxigenina 690
- digoxina
 atividade 686, 696
 estrutura 687, 704
 interação medicamentosa 510
 ocorrência 373, 386
 propriedades físico-químicas 692, 698
 diidrometisalicina, mecanismo de ação 390
- diidrosamidina 550
- dilignana 558
- N,N-dimetiltriptamina
 atividade 829
 estrutura 830, 943
 ocorrência 830
 mecanismo de ação 936, 942
- N,N-3,4-dimetóxi-fenetilamina,
 ocorrência 937
- diosgenina
 estrutura 147
 precursor 147, 376
- diosmina 551
 atividade 602, 603, 605
- diospirina
 atividade 668
 estrutura 667
- discorabina, estrutura e ocorrência 1021
- dissuasório alimentar
 definição e exemplos 82, 97, 907
- diterpenóides cíclicos
 classificação 1006
 ocorrência 1006
 dolabelanos, estrutura e ocorrência 1007, 1008
 espongianos, estrutura e ocorrência 1015
 xenicanos, estrutura e ocorrência 1006, 1007, 1024, 1025
- diterpenos
 ginkgo 388
 miliamina 968
 toxicidade 968
- divergência evolutiva, definição 85
- divergência química, definição 86
- diversidade biológica 24, 47, 50
- diversidade genética
 biodiversidade 32
 importância 14, 17, 24, 33, 35, 42, 66
 legislação 23
 procedimento 29
- paclitaxel 41
- diversidade molecular 15
- divisão (operação), definição e classificação 310
- DMT ver N,N-dimetiltriptamina
- docetaxel
 atividade 384
 estrutura 384
 mecanismo de ação 384
- documentação, amostragem 269
- doença do senécio 859
- domesticação de plantas 51, 53
- dominância genética 31
- Dose Diária Aceitável, agrotóxico 281
- Dose Média Diária, agrotóxico 281
- doseamento
 alcalóides 283, 785, 787
 alcalóides esteroidais 786, 880
 alcalóides indólicos 786, 829
 alcalóides isoquinolínicos 786
 alcalóides tropânicos 786, 803
 alho 266
 alina 262
 antraquinonas 283
 beladona 785
 boldo 785
 cafeína 785, 890
 flavonóides 283, 600
 guaraná 785
 jaborandi 785
 métodos 283
 nocotia 786
 quinonas 666
 senecionina 787
 sinabina 747
 tabaco 786
 taninos 637
 validação 269, 292
- drágeas, definição 304
- ecologia bioquímica, definição 83
- ecotono biótico, definição 98
- ecteinascidina, estrutura e ocorrência 1002, 1035
- efedrina
 atividade 79, 787
 biogênese 417
 toxicidade 936
- eficiência de extração 232
- elagitaninos
 atividade 93
 biogênese 626
 classificação 617
 definição 616
 monomérico 617
 oligomérico 617

- elementos estranhos
 - camomila 276
 - classificação 276
 - procedimento 275
- elemicina 489
- eletroforese capilar
 - alcalóides 786
 - aplicação 242
 - flavonóides 599
 - quinonas 664
- elimoclavina, estrutura 941
- elipticina
 - estrutura e ocorrência 831
 - toxicidade 831
- ELISA, teste imunoenzimático 695
- elixir, definição 308
- elucidação estrutural
 - controle de qualidade 273
 - difração de raios X 244, 665
 - métodos físicos 242
 - objetivos 229, 290
 - palitoxina 1027
 - quinonas 665
- embalagem
 - amostragem 266
 - cápsulas 303
 - comprimidos 304
 - critério de escolha 295, 307
 - estabilidade 295
 - granulados 302
 - pós 301
- embaúba, origem geográfica 48
- emetina
 - atividade 124, 128, 787
 - biogênese 824
 - estrutura 124
 - ocorrência 117, 386, 766
- emodina
 - deteção 665
 - toxicidade 670
- emulsões 500
- emulsão
 - estabilidade 306
 - procedimento 306
- encecalina
 - estrutura e ocorrência 915
- ensaio de pureza
 - itens 269
 - procedimento 275
- ensaio pré-clínico, toxicidade 960
- epicatequina
 - atividade 631
 - guaraná 896
- epigallocatequina, atividade 604
- epitaxia 31
- equinacósideo 528
- equinata, atividade 603
- equipamentos
 - critério de escolha 297
 - manutenção 297
 - validação 297
- equitativa, ocorrência 864
- ergina, estrutura e ocorrência 940, 941
- ergô
 - constituente 832
 - toxicidade 929
- ergô-do-sorgo, toxicidade 929
- ergolinas, atividade 929
- ergometrina
 - atividade 834
 - biogênese 824
 - emprego farmacêutico 834
 - estrutura 833
 - marcador químico 832
- ergotamina
 - atividade 820, 834
 - biogênese 824
 - emprego farmacêutico 834
 - estrutura 833
 - marcador químico 832
 - protótipo farmacológico 833
 - toxicidade 834
- eriodictiol, atividade 602
- eritropoietina, biofarmaco 40
- erva-cidreira
 - atividade 490
 - cultivo 58
 - nomenclatura 221
 - propagação assexuada 58
 - sinonímia botânica 221, 222
- erva-de-baleeira
 - cultivo 65, 67
 - origem geográfica 49
- erva-de-bugre, nomenclatura 222
- erva-de-santa-maria 487
- erva-de-são-joão 359
 - atividade 392
- erva-doce
 - atividade 487, 490
 - constituente 418, 473
- erva-lanceta, monografia 865
- erva-mate
 - atividade 528, 723, 920
 - constituente 723
 - moagem 312
 - sapeco 897
 - monografia 897
- escala de produção, classificação 292
- escalaradial, estrutura e ocorrência 1016
- escina 723

- escolha da via de administração 255
 escolha de solvente 232, 307, 782, 801, 825
 escoparona 545
 escopolamina
 atividade 787, 804, 808, 810
 biogênese 426, 794
 cultivo biotecnológico 137
 cultivo de tecidos 802
 emprego farmacêutico 806
 estrutura 425, 795
 ocorrência 767, 794, 798, 799, 978
 toxicidade 978
 escopoletina
 atividade 545
 estrutura 539, 545
 esculetina, estrutura 539, 545
 esculina 539
 esfingomielina 438
 espécie botânica 77
 espécie vegetal, definição 217
 espécies, definição 300
 especificação
 adjuvante farmacêutico 295
 embalagem 295
 matéria-prima vegetal 286
 solvente 307
 espectrofotometria de absorção atômica 282
 espectrometria de emissão atômica 282
 espectrometria de massas 379
 alcalóides pirrolizidínicos 855, 857
 determinação estrutural 242
 lipídeos 444
 quinonas 665
 retrocin 858
 taninos 636
 espectrometria de ressonância magnética nuclear
 alcalóides indólicos 820
 alcalóides pirrolizidínicos 855, 857
 alicina 747
 clavularano 1025
 compostos de enxofre 748
 elucidação estrutural 242
 flavonóides 601
 lipídeos 443
 palitoxina 1027
 taninos 636
 espectroscopia de difração de raios X
 elucidação estrutural 244
 quinonas 665
 saxitoxina 998
 espectroscopia no infravermelho
 alcalóides pirrolizidínicos 856
 compostos de enxofre 748
 determinação estrutural 242
 flavonóides 601
 lipídeos 442
 quinonas 665
 espectroscopia no ultravioleta 283
 alcalóides indólicos 829
 alcalóides pirrolizidínicos 856
 compostos de enxofre 748
 determinação estrutural 242, 243
 flavonóides 243, 596, 600
 glicosídeos 747
 lipídeos 442
 quinonas 665
 espectroscopia no visível 283
 determinação estrutural 242
 espíndrea-santa
 caracterização genética 66
 classificação 221
 coleta 61
 constituente 117, 129
 cultivo 49, 52, 64, 117
 emprego farmacêutico 13
 identificação genética 35
 marcadores morfológicos 35
 moagem 311
 nomenclatura 220
 origem geográfica 48
 espirossolano
 definição 873
 estrutura 873
 espirodeira, monografia 707
 espongotimidina, estrutura e ocorrência 997
 espongoiridina, estrutura e ocorrência 997
 esponjas
 constituente 997, 1014
 variabilidade química 1014
 espora-do-colorado, constituinte 910
 esporão-de-centeio
 mecanismo de ação 834
 monografia 832, 928
 toxicidade 832
 esqualeno 686
 esquizanterina D 566
 estabilidade
 alcalóides pirrolizidínicos 853
 análise 292
 formulação 300
 marcador químico 290
 pós 301
 estabilização
 condições 230
 definição 230
 estaquia 58
 esteganacina 567, 568
 estemofolina
 estrutura e ocorrência 910, 911

- ésteres céreos 436
- esteróides, caracterização química 273
- esteróides triterpênicos caracterização 238
- esteróis polidroxilados, estrutura e ocorrência 1037, 1038
- estévia, origem geográfica 49
- estigmasterol 376
- estragol 492
- estramônio
 - atividade 810
 - farmacopéia 333
 - monografia 809, 950
- estrictina
 - atividade 249
 - complexo com taninos 636
 - elucidação estrutural 820
 - estrutura 838
 - ocorrência 766, 837, 960
 - registro 337
 - toxicidade 960
- estrictosamina
 - artefato 826
 - biogênese 823
- estrictosina, estrutura 822
- estrolantina G 702, 706
- estrolantina K 690, 702
- estrolanto, monografia 706
- estudo clínico
 - classificação 251, 259
 - definição 251
 - normas 251
 - objetivos 258, 260, 263
 - procedimentos 259
- estudo da eficácia 258, 263
- estudo da segurança 258, 263
- estudo pré-clínico 263
 - definição 250, 251
 - escolha da espécie animal 254
 - etapa botânica 253
 - etapa farmacêutica 253
 - farmacocinética 257
 - farmacodinâmica 254
 - normas 251
 - protocolos 254, 255
 - toxicologia 255
- estudo toxicológico, protocolos 252
- estufa de ar circulante 231
- ética
 - comissão 250
 - diretrizes 250
 - ensaio clínico 247
 - experimentação animal 256
 - pesquisa 116
- etiqueta de coleta 214
- etiquetagem, quarentena 269
- etnobiologia, definição 107
- etnofarmacologia
 - definição 107
- etoposídeo
 - atividade 155, 381, 570
 - ensaios clínicos 380
 - estrutura 381
- eucalipto
 - alelopatia 473
 - atividade 487
 - monografia 490
- eucaliptol ver 1,8-cineol
- eudesmina 569
- eudistomina, estrutura e ocorrência 1034
- eufóbia, toxicidade 962, 969
- eugeniflorina, estrutura e ocorrência 644, 645
- eugenol
 - atividade 488
 - biogênese 418
 - ocorrência 418, 482
- eusiderina A 563
- explant
 - cultura de célula 131
 - definição 126
- exsicata
 - cuidados 215, 229
 - definição 213
 - preparação 213
 - secagem 214
- extração ver também métodos de extração
 - alcalóides 232, 314, 782, 783, 785
 - alcalóides indólicos 825, 826
 - alcalóides isoquinolínicos 783
 - alcalóides pirrolizidínicos 854
 - alcalóides tropânicos 783
 - aminoácidos 314
 - cafeína 891
 - classificação 313
 - cocaína 801
 - conina 785
 - cumarinas 542
 - flavonóides 341, 595
 - heterosídeos cardioativos 692
 - lignóides 567
 - metilxantinas 889
 - mucilagens 314
 - nicotina 785
 - óleos voláteis 475, 476
 - paclitaxel 783
 - quina 783
 - quinonas 664
 - saponinas 314
 - taninos 634
 - tubocurarina 782

- extrativismo
 - consequências 53
 - definição 47, 51
 - importância 46, 69
- extratos
 - bioensaio 379
 - cava 390
 - classificação 306
 - declaração 307
 - definição 306
 - gínco 389
 - hipérico 393
 - modo de ação 394
 - podófilo 380
 - vantagens 373
- extrato espesso, definição 305
- extrato líquido, definição 308
- extrato mole, definição 305
- extrato seco
 - declaração 302
 - definição 302, 305
 - estabilidade 305
 - gínco 387, 388, 389
 - hipérico 392
- extrato total, sene 385
- fáfia 730
- fafosídeos 730
- fagomibuição
 - azadiractina 914
 - definição 907
- falsa-espíheira-santa, identificação
 - genética 35
- falsa-melissa, reprodução 36
- família botânica, definição 77
- farmacocinética, flavonóide 606
- Farmacopéia Geral para o Reino e Domínios de Portugal 372
- farnesol, estrutura 472
- fava-de-calabar, monografia 835
- fava-tonca 537
- felandreno 490
- fenchona
 - estrutura 471
 - ocorrência 491
 - toxicidade 489
- fenecimento do vegetal 230
- fenilpropanóides, biogênese 418, 468
- fenol, ocorrência 525
- fenótipo
 - definição 31
 - marcadores morfológicos 33
- ficha agrônômica 284
- filoquinona
 - biogênese 662
 - estrutura 663
- filotaxia, definição 223
- filtração, classificação 319
- fisalinas
 - atividade 135, 136
 - estrutura 135
- fiscionina, atividade 668
- fisetina, atividade 603
- fisiologia vegetal, organização celular vegetal 410
- fisostigmina
 - ação inseticida 835
 - atividade 378, 835
 - emprego farmacêutico 836
 - ensaio clínico 378
 - estabilidade 835
 - estrutura 836
 - mecanismo de ação 114, 836
 - ocorrência 819
- fistularina, estrutura e ocorrência 1014, 1015
- fitalexina 140
 - definição 590
 - marcador taxonômico 87
- flavanonas
 - biogênese 587
 - definição 587
 - nomenclatura 587
- flavonas
 - definição 581
 - gínco 388
- flavonóides
 - atividade 601
 - bioatividade 94
 - biogênese 96, 137, 140, 421, 578
 - caracterização 237, 273, 596
 - chá-da-india 899
 - C-heterosídeo, definição 579
 - cratoge 642
 - definição 577
 - determinação estrutural 243
 - doseamento 600
 - extração 314, 595
 - farmacocinética 606
 - função vegetal 82
 - gínco 385, 387, 388
 - marcador taxonômico 86
 - mecanismo de ação 603
 - metabolismo vegetal 421
 - nomenclatura 577
 - O-heterosídeo, definição 579
 - ocorrência 15, 385, 387, 388, 642, 899
 - quebra-pedra 15
 - propriedades físico-químicas 595
 - toxicidade 608
- flavonol, definição 581
- flor-de-papagaio

- constituente 970
- toxicidade 970
- floroglucinol 525
- florotaninos, estrutura e ocorrência 1005
- folha-gorda 352
- forbol, mecanismo de ação 114
- Forestal, eluente 637
- fosfatidil-inositol 437
- fosfoinositídeos 437
- fotossíntese, organização celular vegetal 409
- fracionamento 239
- frangula, moagem 312
- frangulina, toxicidade 670
- fraxetina 545
- frutano 503
- fucano 501
- fucissenecionina, ocorrência 866
- funcho
 - atividade 487
 - constituente 418
 - cultivo 58
 - droga 473
 - monografia 491
 - origem geográfica 48
 - registro 358
 - propagação sexual 38
- furanocromonas
 - estrutura e ocorrência 537, 550
- furanocumarinas
 - ação inseticida 914
 - fototoxicidade 489, 548
 - ocorrência 489
- furanossesquiterpenos, estrutura e ocorrência 1017
- furoguaiacina, estrutura e ocorrência 558, 571
- furoguaiacina 571
- furoguaiacina 571
- galangina 582
 - atividade 604
- galantamina
 - atividade 378, 787
 - ensaio clínico 378
- galbulina 563
- galgravina 563
- galotaninos
 - biogênese 626
 - definição 616
 - estrutura 616
 - marcador quimiossistemático 96, 97
- gama-bisaboleno, estrutura 472
- gama-tujaplicina, estrutura 471
- garveatina, estrutura e ocorrência 1026, 1027
- gelanos 500
- genciana 342, 487
- gene
 - anti-sentido 137
 - definição 29
 - importância 102
 - metabolismo vegetal 85, 137
- gênero botânico 77
- gengibre
 - atividade 351, 487
 - constituente 473
 - registro 329
 - segurança 342
- genipapo, caracterização genética 66
- genisteína, atividade 604
- genoma 138
- genótipo, definição 31
- geranina, biogênese 626
- geraniol
 - atividade 488
 - biogênese 469
 - estrutura 471
- gergelim
 - etnofarmacologia 112
 - registro 329
- germina, estrutura 879
- germoplasma
 - conservação 14, 20
 - programas 24
 - melhoramento genético 37
 - banco 34, 124
- gimnospermas, classificação 75, 79
- gincó
 - atividade 389, 605
 - classificação botânica 79
 - classificação 220
 - constituente 388, 608
 - extrato mole 388
 - extrato parcial 388
 - extrato purificado 385
 - farmacologia 609
 - flavonóide 608
 - mecanismo de ação 609
 - monografia 608
 - qualidade 387
- gincol, ocorrência 388
- gincólides
 - atividade 389
 - extrato 389
 - ocorrência 385, 388
 - mecanismo de ação 609
 - protótipo químico 379
- ginseng 394, 723
 - adulterante 36
 - atividade 728
 - cultivo biotecnológico 134
 - identificação genética 35

- monografia 728
- ginseng-brasileiro 730
- ginsenosídeos 722, 728
- ginsenosídeo Rb₁, estrutura e ocorrência 720, 729
- gipsogenina 733
- girassol, constituinte 540, 915
- gitaloxigenina 690
- gitaloxina 703
- gitoxigenina 690
- glicirrizina
 - estrutura e ocorrência 723, 726
 - toxicidade 727
- glicofrangulina
 - ocorrência 302
 - toxicidade 670
- gliconapina, estrutura e ocorrência 742
- glicoproteínas
 - atividade 40
 - ocorrência 977
 - toxicidade 977
- glicosídeos cardioativos ver heterosídeos cardioativos
- glicosídeos cardiotônicos ver heterosídeos cardioativos
- glicosídeos cianogênicos
 - biogênese 425, 427
 - metabolismo vegetal 427
 - ocorrência 975
 - toxicidade 960, 975
- glicosídeos digitálicos ver heterosídeos cardioativos
- glicosinolatos
 - atividade 745, 751
 - bioatividade 745
 - biodisponibilidade 751
 - biogênese 425, 427, 744
 - classificação 742
 - definição 741
 - ocorrência 742
 - toxicidade 745, 751
- gmelinol 569
- goiabeira 617
- gomas
 - definição 504
 - goma adraganta 504
 - goma arábica 504
 - goma caraia 504
 - goma carotiba 504
 - goma gati 504
 - goma guar 510
 - goma-xantana 500
- gomisina N 563
- gossipol, ocorrência 911
- grandisina 558
- granulado
 - definição 302
 - embalagem 302
 - procedimento 302
- granulometria, classificação 312
- graxas e óleos, métodos de obtenção 450
- grindélia 724
- grossularinas, estrutura e ocorrência 1034
- grupo toxifórico, definição 154
- guaçatonga
 - cultivo 55
 - nomenclatura 222
- guaco
 - cultivo 49, 51, 58, 67, 129
 - origem geográfica 48
 - propagação assexuada
- guaiacina 571
- guáiaico, monografia 570
- guaiacol
 - atividade 529
 - registro 329
- guaifenesina 529
- guar 504
- guaraná
 - atividade 893, 920
 - cultivo 118
 - doseamento 785
 - farmacopéia 333
 - mecanismo de ação 893
 - monografia 896
- haloindóis, estrutura e ocorrência 1009, 1010
- hamamelis
 - atividade 639, 640
 - doseamento 638
 - monografia 639
- hamamelitanino, estrutura e ocorrência 639, 640
- harmalina
 - estrutura 942, 943
 - ocorrência 829
- harmiana 609
- harmiano, biogênese 824
- harmina
 - atividade 943
 - biogênese 942
 - estrutura 830, 943
 - ocorrência 609, 829, 942, 943
- harmol 609
- haxixe, definição 924
- heléboro-negro 708
- heléboro-verde, monografia 709
- heliosupina, biogênese 864
- hemicelulose 503
- hena, monografia 678
- hera 724

- herbário 215
- herborização, definição 213
- herniarina 539
- herpetetradiona 558
- herpetetrol 558
- hesperidina, atividade 602, 603, 605
- heterolignóide 558
- heterosídeos cardioativos
 - atividade 685, 696
 - biogênese 429, 686
 - caracterização 238
 - estrutura 687
 - mecanismo de ação 696
 - metabolismo vegetal 429
 - obtenção e análise 692
 - ocorrência 686
 - propriedades físico-químicas 692
 - relação estrutura-atividade 690
 - toxicidade e efeitos adversos 700
- heterosídeos cardiotônicos ver heterosídeos cardioativos
- heterosídeos, metabolismo vegetal 412, 432
- heterozigose 31, 37
- hialocondriamida, ocorrência 1000
- hidraste
 - farmacopéia 333
 - segurança 342
- hidroquinóis, ocorrência 1017
- hidroquinona
 - bioatividade 528
 - estrutura 525
- hidroquinonas preniladas, estrutura e ocorrência 1006
- hidróxi-antrotaxina 558
- 16-hidróxi-forbol
 - ocorrência 967
 - toxicidade 967
- 4-hidróxi-3-metóxi-benzilamina 531
- higrina
 - biogênese 425
 - estrutura 796
 - ocorrência 794, 799
- hinoquiflavona, estrutura 594
- hiosciamina
 - atividade 787, 808, 810
 - biogênese 426, 794, 797
 - estabilidade 801
 - estrutura 425, 795, 798, 922
 - marcador 809
 - mecanismo de ação 921
 - ocorrência 794, 798, 799, 978
 - toxicidade 978
- hioscina, racemização 800
- hiperforina
 - atividade 393, 547
 - estabilidade 394
 - estrutura 393
 - ocorrência 547
 - protótipo químico 379
- hipericina
 - atividade 392, 547
 - estrutura 393, 658
 - ocorrência 547
- hipérico
 - atividade 387, 392, 547, 724, 731, 733, 754
 - constituente 392, 547
 - ensaios clínicos 392
 - mecanismo de ação 392
 - moagem 312
 - restrição de uso 394
- hiperosídeo 642
- hipolaetina, atividade 603
- hirudina, biofarmaco 40
- homozigose 31
- honoquinol 566
- hordatina 564
- hordenina
 - estrutura 935
 - ocorrência 924, 934, 937, 938
 - toxicidade 936
- hortelã
 - constituente 273
 - cultivo 58
 - monografia 491
 - propagação assexuada 58
- hortelã-do-mato
 - cultivo 65
 - origem geográfica 49
- hortelã-pimenta
 - cultivo 475
 - farmacopéia 342
 - monografia 491
- iangambina 564, 568
- iangonina, mecanismo de ação 390
- iboga, monografia 944
- ibogaina
 - atividade 820, 831, 946
 - estrutura 822, 946
 - mecanismo de ação 946
 - ocorrência 945
 - toxicidade 946
- ibogamina, estrutura e ocorrência 946
- identificação botânica
 - controle de qualidade 269
 - coleta 229
 - cultivo 57
 - definição 211, 328, 334
 - estudo clínico 251
 - herbário 215

- procedimento 216, 223, 270
- qualidade 46, 190, 301
- identificação química 290
- imperatorina 546
- In Process Control* 297
- índices
 - acetila 454
 - acidez 453
 - ácido tiobarbitúrico 456
 - ácidos voláteis 454
 - amargor 283
 - espuma 283
 - éster 454
 - hemólise 283
 - intumescimento 283
 - iodo 455
 - Kovats 484
 - miótico 132
 - peróxidos 455
 - saponificação 453
 - Sporne 100
- informações agrônômicas 129
- inseticidas
 - alcalóides esteroides 881
 - bioensaio 906
 - estratégia de avaliação 915
 - importância 903
- insumo farmacêutico, definição 293
- integerrimina
 - espectroscopia no ultravioleta 856
 - ocorrência 867, 895
- interação química 128
- intermedina, ocorrência 865
- intermédio de moagem 231
- intoxicação, prevenção 979
- inulina 503
- ioimbe, monografia 836
- ioimbina
 - atividade 820, 831
 - estrutura 821
 - mecanismo de ação 837
 - ocorrência 837
- ipeca 329, 333
 - atividade 124
 - constituente 124, 766
 - cultivo 117
 - cultivo biotecnológico 128
 - doseamento 785
- ipê-roxo
 - atividade 117
 - distribuição geográfica 49
 - extrativismo 213
 - monografia 676
- iridóide, marcador taxonômico 85
- irinotecano 380, 383
- isoflavonas, atividade 593, 606
- isoflavonóides
 - definição 590
 - nomenclatura 590
- isoguaiacina 571
- isoliquiritigenina 725
- isopimpinfolina, estrutura 878
- isopimpinlina, estrutura e ocorrência 546, 914
- isopsoraleno
 - estrutura 914
 - mecanismo de ação 914
- isoquercetina, metabolismo 606
- isorramnetina
 - atividade 602
 - estrutura 582
- isotujona 474
- jaborandi 13, 333, 339
 - cultivo 65, 67
 - doseamento 785
 - extrativismo 213
- jacenosidina, atividade 605
- jacobina, ocorrência 865
- jalapa
 - distribuição geográfica 49
 - emprego industrial 938
 - farmacopéia 329, 332
- jasmolina, estrutura 908
- jervanina, estrutura 878
- jibóia, toxicidade 965, 966
- juglona
 - alelopatia 666
 - biogênese 662
 - emprego industrial 668
- junípero 342
- Karl-Fischer 278
- lactonas
 - atividade 112
 - ocorrência 389
- lactona sesquiterpênica, relação estrutura atividade, inseticida 912
- lamelarina, estrutura e ocorrência 1035
- lanatosídeos
 - estrutura e ocorrência 385, 704
 - propriedades físico-químicas 692
- lapachol
 - atividade 117, 677
 - emprego farmacêutico 669
 - estrutura 156
- laranjeira 473
- látex 117
- laurencenina, estrutura e ocorrência 1010
- laurifolia, ocorrência 765
- laussona
 - ação alelopática 666

- biogênese 662
- lecitina 437
- lectinas
 - ocorrência 973
 - toxicidade 973
- Leis
 - 824/1991 21
 - 5.991/1973 334
 - 6.360/1976 334, 346, 349, 355, 356
 - 8.974/1995 39
 - 9.279/1996 22
 - 9.456/1977 23, 33
 - 9.782/1999 342
- Lei da Propriedade Intelectual 22
- Lei das Patentes 21, 339
- Lei de Cultivares 23
- leiteninha
 - atividade 132
 - constituintes 132
 - cultivo biotecnológico 132
- leptidina, estrutura 876
- leucopelargonidina, biogênese 626
- levantamentos etnobotânicos
 - procedimento 212, 215
 - regional 92
- levantamentos etnofarmacológicos 212
- levantamentos farmacognósticos 212
- levantamentos fitoquímicos 212
- licarina A 558
- licochalcona, atividade 603
- licopódio, farmacopéias 329, 332
- licopsamina 865
- lignanas
 - classificação e definição 557
 - estrutura 156, 558
 - marcador quimiosistemático 96
 - ocorrência 15
 - podofilotoxina 380
 - ratânia 641
- ligninas
 - classificação e definição 557
- lignóides
 - bioatividade 565
 - biogênese 419, 561
 - classificação e definição 557
 - estruturas básicas e numeração 560
 - metabolismo vegetal 419
 - ocorrência e distribuição 565
 - propriedades, obtenção e análise 567
- Limite Máximo de Resíduo, agrotóxico 281
- Limite Máximo de Resíduo, cálculo 281
- limoneno
 - ação inseticida 911
 - estrutura 471
- limonóides
 - biogênese 912
 - definição 911
 - relação estrutura atividade, inseticida 912
- linalol
 - atividade 488
 - estrutura 471
 - ocorrência 475
- linamarina
 - estrutura e ocorrência 460, 975
 - mecanismo de ação 975
 - toxicidade 975
- lincomicina 510
- língua-de-lagarto, nomenclatura 222
- linho, semente
 - constituinte 329
 - monografia 512
- lioofilização, definição 320
- lipídeos
 - análise industrial 450
 - café 898
 - classificação 436
 - definição 435
 - índices físicos 451
 - índices químicos 453
- liquiritina 725
- lisergida
 - atividade 829
 - estrutura 830
- lisergol, estrutura e ocorrência 940, 941
- lissoclinamida, estrutura e ocorrência 1033
- litorina, estrutura e ocorrência 798
- lobanos, estrutura e ocorrência 1025
- lobélia, farmacopéia 333
- loroferina, toxicidade 936
- losna
 - registro 338
 - toxicidade 487, 489
- louro
 - constituinte 473
 - reprodução 36
- LSD ver ácido lisérgico, dietilamida
- lupeol 717
- luteolina
 - atividade 602, 603
 - estrutura e ocorrência 582, 583
- maceia
 - adulterante 271
 - armazenamento 62
 - atividade 487
 - cultivo 49, 51, 56
 - distribuição geográfica 49
 - nomenclatura 222
- maceração
 - aplicação 316
 - definição 315

- escolha do solvente 316
- procedimento 315
- maconha
 - atividade 920, 926
 - efeitos adversos 927
 - emprego farmacêutico 927
 - monografia 924
 - reprodução 36
 - toxicidade 926
- macromoléculas celulares, organização celular
 - vegetal 406
- magnochinina 566, 567
- magnolol 563
- maiatoxina, estrutura e ocorrência 999
- maitaresinol 569
- malva
 - moagem 311
 - monografia 512
- mamona
 - bioatividade 906
 - constituente 960, 973
 - toxicidade 960, 973
- maná 329
- mandrágora, constituinte 952
- mandioca, toxicidade 962
- mandioca-brava
 - constituente 960, 975
 - intoxicação 960
 - toxicidade 975
- manejo agrícola
 - estratégias 51
 - importância 47, 48, 49
 - populações naturais 63
 - procedimentos 54
 - seleção da espécie 54
 - viveiro 57
- manipulação bioquímica 137
- manipulação genética 137
- manjeriço
 - atividade 490
 - reprodução 36
- manjerona 490
- manoalido, atividade 1003
- mansonona
 - atividade 667
 - estrutura 667
- manteiga de cacau 460, 896
- manzanina, estrutura e ocorrência 1021
- maracujá
 - constituente 394, 609
 - controle biológico 60
 - farmacologia 609
 - farmacopeia 333
 - moagem 312
 - origem geográfica 48
 - monografia 609
- marcador cromatográfico 274
- marcador genético 33
- marcador molecular 33, 42, 66
- marcador morfológico 33, 35
- marcador químico
 - estabilidade 290
 - estudo clínico 235
- marcela ver macela
- maricultura, problemas 997
- mata-olho, identificação genética 35
- matéria insaponificável, lipídeos 454
- mecanismo de ação
 - ácido lisérgico, dietilamina 950
 - ácido ibotênico 938
 - alcalóides esteroidais 869
 - alcalóides indólicos 829
 - alcalóides pirrolizidínicos 861
 - alcalóides tropânicos 804, 921
 - alho 753
 - atropina 114, 375, 377
 - beladona 794
 - briostatinas 1029
 - cafeína 893
 - campotecina 383
 - cava 390
 - comigo-ninguém-pode 965
 - diidrometisticina 390
 - determinação 254
 - docetaxel 384
 - esporão-de-centeio 834
 - fisostigmina 114, 836
 - flavonóides 603
 - ginkgo 609
 - gincolides 609
 - guaraná 893
 - heterosídeos cardioativos 696
 - hiosciamina 921
 - hipérico 392
 - iangonina 390
 - ibogaína 946
 - icimbina 837
 - isopsoraleno 914
 - linamarina 975
 - mescalina 934, 937
 - metilxantinas 892
 - metisticina 390
 - muscarina 114, 921
 - naftodiantronas 392
 - nicotina 114, 375
 - óleo de mostarda 749
 - pilocarpina 114
 - psilocibina 931, 936
 - reserpina 831, 839
 - rotenonas 908

- taninos 629
- teofilina 894
- tetraidroarmina 943
- tetraidrocanabinol 920
- tetroditoxina 998
- tomatina 881
- vimblastina 841
- vincristina 841
- xantotoxina 914
- Medidas Provisórias
 - 2.052/2000 19
 - 2.126/2000 19
- memendo
 - atividade 812
 - constituente 952
 - farmacopéia 329
 - monografia 811
- melhoramento genético 36, 41
- meliacina, definição 912
- melilotosídeo 524, 551
- melissa
 - atividade 487
 - constituente 524
 - cultivo 58
 - moagem 311
 - origem geográfica 48
 - propagação assexuada 58
 - registro 358
- menta 487
- menta-japonesa 491
- mentofurano 491
- mentol, estrutura e ocorrência 471, 482, 491
- mentona, estrutura e ocorrência 471, 491
- mentrasto, controle biológico 60
- mergulhia 58
- mescalina
 - atividade 934
 - biogênese 418
 - estrutura 922, 935
 - mecanismo de ação 936
 - ocorrência 934, 937
 - toxicidade 935, 936
- metabolismo vegetal
 - definição 403
 - metabolismo primário 404
 - definição 81
 - metabolismo secundário 404, 410
 - definição 81
 - flavonóides 606
- metabólitos 403, 404
- metais pesados, limite de tolerância 281
- 4-metilesculetina 545
- metilaconitina, estrutura e ocorrência 910
- metilarbutina 532
- 7-metiljuglona
 - alelopatia 666
 - estabilidade 664
- 3-O-metiquercetina, atividade 602
- metilxantinas
 - atividade 892
 - biogênese 772, 887
 - definição 885
 - farmacocinética 893
 - seleção do solvente 889
 - mecanismo de ação 892
- metisticina, mecanismo de ação 390
- método analítico, validação 292
- métodos cromatográficos, ver em cromatografia
 - definição 239
 - perfil cromatográfico 273
- métodos de extração 233
 - arraste por vapor d'água 283, 476, 785
 - arefatos 634, 664, 847
 - decocção 234
 - eficiência 232
 - enfloração 476
 - fluido supercrítico 476, 782
 - frio 233
 - infusão 234
 - maceração 233, 315
 - partição 239
 - percolação 233, 316
 - quente 234
 - refluxo 234
 - seleção do solvente 232, 634, 889
 - sistemas abertos 233
 - sistemas fechados 234
 - Soxhlet 234
 - turbolização 233, 319
- métodos químicos, lipídeos 447
- 8-metóxi-psoraleno 549, 550
- metoxsaleno 549
- micropropagação 126, 290
- mil-folhas
 - cultivo 58
 - origem geográfica 48
 - propagação assexuada 58
- miliamina
 - ocorrência 968
 - toxicidade 968
- mirreno
 - ação inseticida 911
 - estrutura 471
- miricetina
 - atividade 603
 - estrutura 582
- miristicina 489
- mirra 329
- misturas azeotrópicas

- cuidados 320
- definição 314
- moagem
 - classificação da operação 231
 - escolha de equipamento 310
 - objetivo 231
 - procedimento 310
- moinhos 231
- monitoramento farmacológico 110
- monitoramento químico 110
- monocrotalina, toxicidade 852
- monocultura 52
- monografias
 - alcachofra 529
 - alcaçuz 725
 - alho 752
 - alteia 511
 - amanita 947
 - âmio 549
 - angelica 550
 - ayahuasca 941
 - babosa 675
 - barbatimão 643
 - beladona 807
 - borragem 867
 - brássica 750
 - café 897
 - calêndula 730
 - campainha 938
 - cápsico 531
 - cardo-santo 571
 - cáscara-sagrada 673
 - cava 359
 - centela 731
 - chá-da-índia 899
 - chapéu-de-napolcão 708
 - cila 707
 - cinoglossa 864
 - citros 551, 608
 - coca 812
 - cola 895
 - confrei 864
 - convallaria 708
 - cratogeomys 642
 - digital 703
 - erva-lanceta 865
 - erva-mate 897
 - espirradeira 707
 - esporão-de-centeio 832, 928
 - estramônio 809, 950
 - estrolanto 706
 - eucalipto 490
 - fava-de-calabar 835
 - funcho 491
 - gincão 608
 - ginseng 727
 - guaraná 896
 - hamamélis 639
 - heléboro-negro 708
 - hena 678
 - hortelã 491
 - iboga 944
 - ioimbe 836
 - ipê-roxo 676
 - linho, semente 512
 - maconha 924
 - malva 512
 - maracujá 609
 - meimendro 811
 - mostarda 748
 - noz-vômica 837
 - pciote 931
 - pitangueira 644
 - plantago 511
 - podofoilo 569
 - quilaia 732
 - ratânia 640
 - rauvolfia 839
 - ruibarbo 674
 - sene 671
 - tormentila 641
 - trevo 550
 - trombeteira 811
 - uva-ursina 532
 - vinca 841
- monoterpenos halogenados, estrutura e ocorrência 1009
- morfina
 - atividade 787, 928
 - biogênese 415
 - elucidação estrutural 766
 - ocorrência 386, 418
- morina, atividade 603
- mostarda
 - atividade 749
 - constituente 744
 - hipersensibilidade 749
 - monografia 748
- mostarda-branca, constituinte 742, 749
- mostarda-negra, constituinte 742, 749
- mucilagem
 - definição 504
 - extração 314
- muirapuama, farmacopéia 329, 332
- muscarina
 - estrutura 922
 - mecanismo de ação 114, 921
 - ocorrência 948
- muscazona, estrutura e ocorrência 949
- muscimol

- atividade 948
- estrutura 949
- ocorrência 948
- toxicidade 950
- mutação genética
 - causas 31
 - consequências 36, 86, 768
 - importância 102
- mutamba 352
- nabilona, atividade 928
- nabo, constituinte 742
- naftodiantrona, mecanismo de ação 392
- naftoquinonas
 - atividade 658
 - estrutura 1037
 - ocorrência 663, 1037
- nagilactona, estrutura e ocorrência 912, 913
- necina
 - biogênese 848
 - dados físico-químicos 855
 - estrutura 847
 - relação estrutura atividade 859
 - toxicidade 859
- neoflavonoide, definição 593
- neolaurencina, estrutura e ocorrência 1010
- neolignanas 557, 558
- nepelactona, estrutura 471
- 4-nerolidilcatecol
 - atividade e estrutura 133
- nerolidol, estrutura 472
- nicotina
 - bioatividade 904
 - biogênese 767
 - doseamento 786
 - extração por arraste de vapor 785
 - mecanismo de ação 114, 375
 - ocorrência 799, 906, 910
- notobanino, estrutura 619
- nogueira
 - constituinte 666
 - toxicidade 962, 967
- nome popular, cuidados 222
- nomenclatura botânica
 - importância 211
 - técnica 219
- norhignana 558
- normicotina
 - ação inseticida 904
 - estrutura 910
 - ocorrência 906
- noscapina, atividade 787
- noz-de-galha 617
- noz-moscada 342, 473
- noz-vômica
 - constituinte 960
 - monografia 837
 - toxicidade 838, 960
- oblinginina, estrutura 878
- 3-O-cafeoilglicoside 524
- oenotinas, estrutura e ocorrência 619, 644, 645
- oenoterina, estrutura e ocorrência 620
- oleandrina 708
- oleandrogenina 690
- óleo de algodão 461
- óleo de alho 489
- óleo de amêndoas-amargas 526
- óleo de amendoim 462
- óleo de cade 329
- óleo de canola 461
- óleo de coco 463
- óleo de colza 461
- óleo de girassol 461
- óleo de hissopo 489
- óleo de linhaça
 - constituinte 460
 - ocorrência 512
- óleo de mamona ver óleo de ricino
- óleo de mostarda
 - constituinte 489
 - mecanismo de ação 749
 - toxicidade 489
- óleo de noz-moscada 489
- óleo de oliva 461
- óleo de ricino
 - emprego farmacêutico 459
 - emprego industrial 459, 974
 - ocorrência 459, 974
 - toxicidade 459, 974
- óleo de tungue
 - emprego industrial 967
 - toxicidade 967
- óleos voláteis
 - alelopatia 473
 - análise 240, 379
 - avaliação da qualidade 478
 - biogênese 429
 - definição 467
 - enfloração 476
 - extração, tratamento e conservação 475
 - extração com solventes orgânicos 476
 - extração por arraste por vapor d'água 476
 - extração por CO₂ supercrítico 476
 - metabolismo vegetal 429
 - métodos cromatográficos de análise 483
 - óleo de alecrim 487
 - óleo de angélica 550
 - óleo de arnica-mexicana 486
 - óleo de baunilha 468
 - óleo de bergamota 468, 489, 473

- óleo de camomila 468, 482, 486
- óleo de canela 283, 468, 482, 483, 486, 489
- óleo de cominho 482
- óleo de cravo-da-índia 482, 483, 488
- óleo de crava-doce 480
- óleo de eucalipto 468, 480, 490
- óleo de frutos cítricos 482
- óleo de funcho 489, 491
- óleo de laranjeira 473
- óleo de manjeriço 489
- óleo de menta 480, 482, 484, 491
- óleo de orégano 478
- óleo de sálvia 489
- óleo de tomilho 482, 492
- prensagem 476
- quimiotaxonomia 472
- óleos fixos 459
- oligolignóides 558
- olivacina
 - estrutura 831
 - ocorrência 831
 - toxicidade 831
- olivil 569
- operação de classificação, procedimento 312
- operação de purificação, classificação 319
- operação, parâmetro 298
- ópio
 - constituintes 418
 - ocorrência 386
 - pó, atividade 386
 - tintura, atividade 386
- orégano 490, 524
- organismo geneticamente modificado 38
- organização celular vegetal 407
- organogênese 128
- ostol
 - atividade 545, 546
 - estrutura e ocorrência 539, 545
- otobafeno 558
- otobaina 567
- ouabagenina 690
- ouabaina
 - atividade 706
 - determinação 694
 - ocorrência 702, 706
- oxalato de cálcio
 - ocorrência 964
 - toxicidade 964
- oxilipina, estrutura e ocorrência 1012
- pachitaxel
 - atividade 14, 79, 149, 380, 382, 383, 384
 - biofarmaco 41
 - estrutura 150, 384
 - extração 783
 - isolamento 383
 - ocorrência 14, 41, 766
 - propriedade intelectual 41
 - protótipo químico 14, 41, 379
 - síntese 375
- paicira, caracterização genética 66
- palitoxina, estrutura e ocorrência 1027
- palma-rosa, cultivo agrícola 129
- panaxosídeo A 728
- papaína 329
- papaverina
 - biogênese 418
 - ocorrência 767
- papilotrieno, estrutura 880
- pariparoba
 - atividade 133
 - caracterização genética 66
 - constituente 133
 - cultivo 49, 55, 65
- parsonsianina, estrutura e ocorrência 852, 8533
- partes estranhas, qualidade 301
- partição por solventes 239
- pata-de-vaca
 - caracterização genética 66
 - cultivo 49, 51, 55, 60, 67
 - origem geográfica 48
- patente 25
- patenteamento 23
- patrimônio genético, definição 19
- pau-rosa 473
- pau-santo 571
- pectina
 - atividade 505
 - definição 505
 - interação medicamentosa 510
 - ocorrência 608, 896
- pedunculagina, biogênese 626
- peonina, estrutura e ocorrência 934, 935
- peioter
 - atividade 921
 - constituente 417
 - monografia 931
 - toxicidade 936
- peiotina
 - estrutura 935
 - ocorrência 934
 - toxicidade 936
- peptídeos cíclicos, estrutura e ocorrência 1022
- peróxidos cíclicos, estrutura e ocorrência 1018, 1019
- percolação
 - classificação 316
 - contra-corrente 318

- definição 316
- equipamentos 316
- fracionada 317
- procedimento 316
- perda por dessecação
 - procedimento 278
 - resina 278
- perezona
 - atividade 667
 - estrutura 667
- perfil biofarmacêutico 292
- perfil cromatográfico 273
- perfil metabólico, definição 94
- peroba, caracterização genética 66
- pesticida, definição 280
- pieão, cultivo 49
- pilocarpina
 - atividade 375
 - extrativismo 213
 - mecanismo de ação 114
 - ocorrência 14, 386
- pimenteira-do-mato, toxicidade 960
- pinhão-de-purga
 - constituente 971
 - toxicidade 971
- pinhão-paraguaio, toxicidade 962
- pinocanfona 489
- pinoresinol 558, 569
- piperardina
 - atividade 180
 - estrutura 180
- piperenona 566
- piperidilpregnanos
 - definição 872
 - estrutura 873
- piperidina, definição 873
- piperina
 - atividade 180
 - estrutura 180
 - ocorrência 765
- piperonal, estrutura 153
- piranocumarina 550
- piretrina
 - ação inseticida 904
 - estrutura 907
 - ocorrência 906
- piretro, ocorrência 908
- piretróide
 - ação inseticida 903, 904
 - estabilidade 909
 - toxicidade 909
- pirocatecol 525, 529
- pitangueira
 - atividade 644
 - monografia 644
- plantas tóxicas 959
 - listagem 980
- plantas transgênicas 38, 40, 138
- plantago, monografia 511
- plantamajosideo 528
- plântula
 - cultivo biotecnológico 140
 - ipeca 128
- plasmalógeno 438
- pleiotropia, definição 29, 31, 32
- plumbagina, alelopatia 666
- pó de ópio, atividade 386
- pó de pele, complexo tanino 638
- pós, encapsulamento 303
- pó-da-pérsia, definição 907
- podofila 380
- podofilo, monografia 569
- podofilotoxina
 - atividade 380, 567, 568, 570
 - estrutura 155, 381, 564, 568, 570
 - mecanismo de ação 380
 - ocorrência 567, 569
 - precursor 155, 570
- poejo
 - constituente 911
 - mecanismo de ação 912
- polaridade do solvente 232
- poliacetilenos
 - estrutura 1019
 - função vegetal 82
 - marcador quimiossistemático 96
 - marcador taxonômico 85, 86
 - ocorrência 1019
- poliandrocarpidina, estrutura e ocorrência 1035, 1036
- policetideo, bioatividade 94
- policultura 52
- polifenóis
 - atividade 93, 94, 97
 - caracterização 237
- poligala 724
- polipeptídeos
 - interferentes 386
 - protótipo 378
- polipropionatos, estrutura e ocorrência 1040
- polissacarídeos
 - atividade 508
 - biogênese 433
 - classificação 498
 - definição 497
 - efeitos adversos 509
 - impacto fisiológico 507
 - interações medicamentosas 510
 - interferentes 386
 - metabolismo vegetal 433

- propriedades 506
- protótipo 378
- polivinilpirrolidona, complexo tanino 638
- pomadas
 - estabilidade 305
 - formulação 305
- POP ver Procedimento Operacional Padrão
- Portarias
 - 2/1995 357
 - 5/1982 338
 - 6/1995 251, 346, 347, 349, 355, 357
 - 6-N/1992 339
 - 12/1980 337
 - 19/1981 337, 338, 339, 358
 - 22/1967 333, 336, 339, 346
 - 31/1994 340, 346
 - 32/1986 338
 - 40/1994 340
 - 42/1994 340
 - 43/1994 340
 - 52/1998 67
 - 55/1990 339
 - 81/1995 355, 356
 - 90/1994 351
 - 91/1994 351
 - 116/1995 264, 356, 357
 - 116/1996 256, 261, 291
 - 122-P/1985 337
 - 123/1994 346
 - 125/1995 346, 355
 - 174-P/1981 337
 - 178/1998 356
 - 196/1996 255
 - 519/1998 358
 - 546/1993 340
 - 550/1997 358
 - 685/1998 281
 - 741/1998 359
 - 1029/1998 251, 350
- Portaria Normativa 122-P/1985 68
- pós
 - definição 301
 - embalagem 301
 - procedimento 301
 - estabilidade 301
- precoceno, mecanismo de ação 915
- preservação de ecossistema 116
- primina
 - ação inseticida 666
 - atividade 667
 - estrutura 667
 - ocorrência 666, 667, 668
- primula 724
- Principium somniferum*, definição 766
- proantocianidina 621
- marcador quimiosistemático 96
- Procedimento Operacional Padrão 293, 298
- processo, validação 292
- procianidinas
 - atividade 393
 - estrutura 622
 - nomenclatura 622
- produtos marinhos 993
- Projeto de Lei 306/1995 18
- propacina 559
- propagação
 - assexuada 58
 - importância 123
 - sexuada 58
- propelargonina, biogênese 628
- propenilfenóis 562
- propenilquinóis, ocorrência 1016
- Propriedade Intelectual 21, 23, 117
- proscilaridina, atividade 707
- prospecção genética 20
- prostaglandina 441
- proteínas
 - chá-da-india 899
 - interferentes 386
 - protótipo farmacológico 378
 - toxicidade 971
- protocolo, qualidade 293
- protopanaxadiol 728
- protótipo
 - farmacológico 108, 116, 377
 - esgotamento 378
 - piretróide 909
 - químico 14, 30, 377, 794, 959
 - safrol 165
- protoveratrina
 - atividade 787
 - toxicidade 878
- protoverina, estrutura e ocorrência 878
- pseudoalcalóides
 - biogênese 772
 - definição 766
- pseudopterossina, estrutura e ocorrência 1003
- psilocibina
 - atividade 829, 931
 - biogênese 931
 - estrutura 830, 931
 - ocorrência 829, 932
 - mecanismo de ação 931, 936
 - toxicidade 931
- psilocina
 - atividade 931
 - biogênese 931
 - estrutura 922, 931
 - ocorrência 931
 - toxicidade 931

- psoraleno, estrutura 539, 914
- psorospermina 547
- pteridófitas, classificação 78
- pterocarpano, nomenclatura 592
- pulegona
 - estrutura 148, 913
 - ocorrência 911
 - precursor químico 148
 - toxicidade 491
- pulverização 231
- pupuqueano, estrutura e ocorrência 1020
- puupenona, estrutura e ocorrência 1016
- qualidade
 - asseguramento 264
 - conceito 263
 - definição 293
 - documentação 264
 - gerenciamento 264
 - microbiológica 300
 - padrão 264
 - parâmetro 263
 - procedimentos 264
 - protocolo 264, 293
- qualidade total, definição 293
- quarentena
 - definição 269
 - etiquetagem 269
- quarteamento, procedimento 267
- quassina
 - ação inseticida 904
 - estrutura e ocorrência 909
- quebracho 633
- quebra-pedra
 - constituinte 15
 - registro 352
- quelina 537, 539, 550
- quelinol 550
- quelol 550
- quercetina
 - atividade 602, 603, 605
 - biodisponibilidade 606
 - efeito mutagênico 608
 - estrutura 582
 - farmacocinética 606
 - marcador, gínco 387
 - metabolismo 606
 - ocorrência 577, 582, 583
- quielcorina 559
- quilaja, monografia 733
- química combinatória 99
- quimiosistemática
 - definição 97
 - importância 84, 91
 - seleção de inseticidas 915
- quimiotaxonomia
 - definição 82, 97
 - importância 109
 - seleção de espécies 114, 212
- quina
 - constituinte 666
 - extração industrial 783
 - extrato 373, 386
- quina-amarela 333
- quina-cruzeiro
 - cultivo 66
 - distribuição geográfica 49
- quina-vermelha 333
- quinidina
 - atividade 787
 - biogênese 417
 - interação medicamentosa 510
 - ocorrência 386, 417
- quinina
 - atividade 787
 - biogênese 417
 - elucidação estrutural 766
 - ocorrência 373, 386, 417
- quinonas
 - atividade 666
 - biogênese 419, 662
 - classificação 657
 - definição 657
 - deteção 660
 - doseamento 666
 - efeito adverso 670
 - emprego farmacêutico 657, 668
 - emprego industrial 668
 - estabilidade 660, 664
 - estrutura 1006
 - função vegetal 82
 - interação medicamentosa 670
 - marcador quimiotaxonômico 664
 - mecanismo de ação 670
 - nomenclatura 658
 - ocorrência 1006, 1016
 - procedimento de extração 664
 - reatividade química 660
 - relação estrutura atividade 669
 - toxicidade 670
- ramnozina, atividade 602
- rancidez, lipídeos 455, 456
- rasuração 231
- ratânia
 - atividade 641
 - monografia 640
- ratânia-do-peru 640
- rataniafenol I 558
- rauvólia
 - cultivo 839
 - monografia 839

- RDC ver Resoluções de Diretoria Colegiada
- reação de Baljet 694, 695
- reação de Bornträger 238, 660
- reação da cianidina 597
- reação de Kedde 238, 694, 695
- reação de Keller-Kiliani 239, 694
- reação de Legal 694
- reação de Liebermann-Burchard 238
- reação de Marini-Bettolo 597
- reação de Pesze 694
- reação de Raymond-Marthoud 694
- reação de Salkowsky 238
- reação de Shinoda 237, 597
- reação de Stiasny 237
- reação do xantidrol 694
- reação histoquímica, procedimento 272
- reação, ácido sulfúrico 597
- reação, citro-bórica 597
- reagente CSSA 827
- reagente de Bertrand 238, 781
- reagente de Bertrand e Bouchardat 802
- reagente de Bornträger 665, 666
- reagente de Bouchardat 781
- reagente de Craven 665
- reagente de Dragendorff 238, 781, 802, 813, 825
- reagente de Folin-Ciocalteu 598, 637
- reagente de Folin-Denis 637
- reagente de Gibbs 598
- reagente de Hager 781
- reagente de Mayer 238, 781, 802, 825
- reagente de Price-Butler 637
- reagente de Shinoda 237
- reagente de Urk 781
- reagente de Vitali e Gerrard 802
- reagente de Vitali-Morin 781, 802
- reagente de Wagner 238, 781
- reagente FCPA 827
- reagente formaldeído-ácido clorídrico 637
- reativo da murexida 890
- reativo de Dragendorff 890
- reativo de Ehrlich 854
- reativo de Meyer 890
- reativo de Wilson 597
- recurso genético
- importância 13, 116
 - legislação 19, 21, 47
 - biodiversidade 20, 34
 - protótipo químico 25
 - patenteamento 25
- registro
- Brasil
 - definições 335, 350, 359
 - procedimentos 350, 358
 - normatização 329, 337, 338, 339, 346, 347, 349,
 - EUA 341
 - Europa 342
 - internacionais 343, 345
 - isenção 335, 338, 355, 356, 358
 - Organização Mundial da Saúde 340
 - reguladores de crescimento, definição 125, 132
 - reina, atividade 668
 - relação estrutura atividade
 - lactona sesquiterpênicas, ação inseticida 912
 - limonóides, ação inseticida 912
 - quinonas 669
 - relação risco/benefício 249
 - repolho, constituinte 742
 - reserpina
 - atividade 392, 787, 820, 831, 840
 - efeito adverso 840
 - emprego farmacêutico 841
 - estrutura 840
 - marcador quantitativo 282
 - mecanismo de ação 831, 839
 - ocorrência 386, 831, 839
 - protótipo farmacológico 839
 - Resoluções
 - 1/1988 250, 256
 - 4/1988 338
 - 8/1988 338
 - 19/1992 339
 - 23/2000 358
 - 196/1996 250, 251, 258, 261
 - Resoluções de Diretoria Colegiada
 - 17/2000 251, 289, 349, 350, 352, 353
 - 23/1999 357
 - 134/2001 284
 - Resoluções Específicas
 - 357/2002 394
 - 358/2002 391
 - Resolução Normativa 7/1979 356
 - resorcinol, ocorrência 525
 - ressonância magnética nuclear ver espectrometria de
 - ressonância magnética nuclear acoplada à cromatografia gasosa ver espectrometria de
 - retrochalcona, definição 586
 - retrorsina
 - ocorrência 865, 867
 - doseamento 787
 - riânia, ação inseticida 904
 - rianodina
 - ação inseticida 904
 - estrutura 910
 - ocorrência 911

- toxicidade 911
- ricina
 - ocorrência 459, 960, 974
 - toxicidade 459, 960
- ricinina
 - ocorrência 459, 974
 - toxicidade 459, 974
- ridelina, ocorrência 865
- robinetina 577
- robustiflavona, estrutura 594
- rodojaponina, estrutura e ocorrência 912, 913
- rosmarino 490
- rotação específica, tanino 636
- roteiro clássico de Stas-Otto 236
- rotenóides
 - ação inseticida 904
 - atividade 593
 - nomenclatura 592
 - ocorrência 906
- rotenonas
 - estrutura 907
 - mecanismo de ação 908
- rubrolideo, estrutura e ocorrência 1036
- rubarbo
 - atividade 675
 - constituente 664
 - emprego farmacêutico 669
 - farmacopéia 333
 - moagem 312
 - monografia 674
- rutina
 - atividade 605
 - estrutura 582
 - metabolismo 606
 - ocorrência 551, 583
- sabadilha
 - ação inseticida 904
 - ocorrência 911
- sabugueiro, cultivo 55
- sacarose
 - adjuvante farmacêutico 301
 - qualidade 295
- safrol
 - estrutura 151
 - precursor químico 151
 - toxicidade 154
- sal de ópio, definição 766
- salicina, protótipo 375
- salsaparrilha 329, 332, 724
- sálvia
 - atividade 487
 - constituente 490
 - cultivo 53, 58
 - farmacopéia 332
 - moagem 311
 - toxicidade 489
- samidina 550
- sândalo 473
- sangue-de-boi, toxicidade 969
- sangue-de-dragão, cultivo agrícola 117
- sanguina, estrutura 619
- sanguinarina, ocorrência 768
- santina, atividade 603
- santolinol, contaminante 266
- sapeco 897
- saponinas
 - atividade 723
 - biogênese 429
 - características químicas 713
 - caracterização 238
 - cultivo biotecnológico 134
 - deteção, identificação e obtenção 718
 - emprego farmacêutico 724
 - erva-mate 897
 - estabilidade 306
 - extração 314
 - função vegetal 82
 - ginseng 134
 - guaraná 896
 - marcador taxonômico 84
 - metabolismo vegetal 429
 - ocorrência e distribuição 718
 - precursor químico 147
 - propriedades biológicas 722
 - propriedades gerais 712
 - protótipo 378
 - terminologia e classificação 712
- saponinas esteroidais
 - atividade 722
 - biogênese 713
 - estrutura e ocorrência 713, 718, 1037
- saponinas triterpênicas 717
- sapucainha, constituinte 149
- sarina, estrutura e ocorrência 1021
- sarmentogenina 690
- sarverogenina 690
- sassafrás, constituinte 200
- saxitoxina
 - estrutura e ocorrência 998
 - toxicidade 998
- secagem 62, 264
 - cáscara-sagrada 277
 - classificação 320
 - condições 230
 - cuidados 853
 - definição 230, 320
- seccionamento 231
- secoesteróis, estrutura e ocorrência 1026
- secologanina, biogênese 823
- seleção da espécie

- critérios 124
- estudos clínicos 253
- etnofarmacologia 108, 113
- seleção de linhagem 124, 132
- seleção de matrizes 138
- seleção de variedade 124
- seleção massal, definição 37
- seleção natural, alcalóide 798
- seleção recorrente, definição 38
- seletividade do solvente 232
- sena ver sene
- sene
 - atividade 671
 - emprego farmacêutico 669
 - farmacopéia 333
 - marcador químico 282
 - moagem 311
 - monografia 671
- senecifilina, ocorrência 865
- senécio
 - constituente 426
 - toxicidade 859
- senecionina
 - biogênese 851
 - doseamento 787
 - espectroscopia no ultravioleta 856
 - ocorrência 848, 865, 866, 867
 - toxicidade 852, 866, 867
- senosídeos, ocorrência 302
- senosídeo B, marcador 385
- senquirquina
 - doseamento 787
 - ocorrência 867
- serotonina, ocorrência 819
- serpentina, ocorrência 839
- sesamina, estrutura 133
- sesquilignana 558
- sesquiterpenos, estrutura e ocorrência 1024
- sete-sangrias
 - constituente 13
 - reprodução 36
- silandrina 572
- silibina 572
- silibinina 572
- silicristina 572
- silidianina 572
- silimarina 572, 573
- silimonina 572
- sinabina, doseamento 747
- sinalbina, estrutura e ocorrência 742
- sincarpia 81
- sinigrina, estrutura e ocorrência 742
- sinonímia botânica
 - cuidados 220
 - definição 220
- sinton 376
 - definição 148
- siquimotóxina 570
- sistemas de classificação
 - Bold 76
 - Cronquist 76, 80, 85, 92, 218, 221
 - Dahlgren 76, 85, 221
 - definição 211, 217
 - Engler 76, 221
 - Linnaeus 75
 - Takhtajan 76, 221
 - critérios 75, 223
- sistema filogenético 75
- sistemática 217
- soja
 - constituente 605, 721
 - melhoramento 37
 - reprodução 36
- soladinano, estrutura e ocorrência 873
- solanidina, estrutura 716, 876
- solanina
 - atividade 881
 - bioatividade 768
 - estrutura 871, 876
 - ocorrência 766, 871
- solanocapsina
 - definição 873
 - estrutura 878
- solasodina
 - estrutura 716, 875
 - ocorrência 715
 - precursor químico 376
- solução extrativa, definição 313
- solvente
 - azeótropo 314
 - critérios de escolha 313, 315, 664, 853, 905
 - metilxantinas 889
 - taninos 634
 - resíduo 898
 - segurança 314
 - toxicidade 314
- Soxhlet 234
- spray-drying, definição 320
- Stas-Otto, esquema 236
- sucos
 - definição 306
 - estabilidade 306
 - formulação 306
- sucupira 339
- supositório, procedimento 306
- surinamensina, atividade e estrutura 566, 567
- tabaco
 - atividade 920
 - constituente 910

- doseamento 786
 - tabernantina, estrutura e ocorrência 945, 946
 - taiuiá, reprodução 36
 - tambjamina
 - estrutura 1030
 - ocorrência 388, 1029
 - tanchagem
 - constituente 266
 - cultivo 49
 - origem geográfica 48
 - taninos
 - análise 636
 - artefato de extração 634
 - atividade 93, 94, 96, 97, 629, 631
 - barbatimão 643
 - bioatividade 94, 97, 629
 - biogênese 625, 412
 - cacau 622, 896
 - caracterização 238
 - chá-da-india 899
 - classificação 615
 - complexo 617, 631
 - com cafeína 890
 - irreversível 632
 - reversível 632
 - cratego 642
 - curtimento 633
 - definição 615
 - doseamento 637
 - estabilidade 306, 617, 634
 - extração 634
 - farmacologia 629
 - formação de complexos 631
 - função vegetal 82, 629
 - grupo desidrogaloila 619
 - grupo sanguissorboila 619
 - grupo valoneoila 617
 - guaraná 896
 - hamamelis 639
 - isolamento 634
 - marcador taxonômico 84, 629
 - mecanismo de ação 629
 - metabolismo vegetal 412
 - noz-de-cola 895
 - ocorrência 15, 290, 386, 629, 639, 641, 642, 643, 644, 896, 899
 - quebra-pedra 15
 - pitangueira 644
 - propriedades 615
 - protótipo 378
 - ratânia 641
 - secagem 634
 - seleção de solvente 634
 - tormentila 641
- taninos condensados
- biogênese 422, 628
 - caracterização 237
 - classificação 621
 - metabolismo vegetal 421
 - nomenclatura 622
- taninos elágicos, bioatividade 96
- taninos gálicos, bioatividade 96
- taninos hidrolisáveis
- biogênese 412, 625
 - caracterização 237
 - classificação 616
 - marcador taxonômico 86
- taumatina 41
- taxano 41
- taxifolina 572
- atividade 602
 - derivados, atividade 604
- taxol ver paclitaxel
- táxon
- definição 75, 216
- taxonomia, definição 217
- taxonomia molecular, definição 84
- tefrosina, estrutura e ocorrência 907
- teixo-do-pacífico
- constituente 14, 23
 - reprodução 36
- telimagrandina, biogênese 626
- teniposídeo, estrutura e ocorrência 380, 381, 570
- tenulina, estrutura e ocorrência 912, 913
- teobromina
- atividade 787, 892
 - biogênese 772
 - cacau 896
 - erva-mate 897
 - estrutura 886
 - farmacopéia 329
 - guaraná 896
 - noz-de-cola 895
 - ocorrência 885, 886
- teofilina
- atividade 787, 892, 894
 - estrutura 886
 - guaraná 896
 - mecanismo de ação 894
 - ocorrência 885
- teor de cinzas, procedimento 277
- teor de umidade
- limite 278
 - óleos voláteis 278
 - qualidade 301
- teor mínimo 266
- terebintina
- atividade 487
 - farmacopéia 329

- ocorrência 477
- terpenos
 - gínco 388
 - metabolismo vegetal 430
 - ocorrência 15, 388
 - quebra-pedra 15
- terpenóides
 - biogênese 140, 469
 - halogenados, biogênese 1011
- terpinoleno, estrutura 471
- tetraidroarmina
 - estrutura 942, 943
 - mecanismo de ação 943
- tetraidroberberina, doseamento 786
- tetraidrocannabinol
 - atividade 927, 928
 - estrutura 922, 925
 - mecanismo de ação 920
 - ocorrência 920
- tetraidrofuroguaiacina A 571
- tetrodotoxina
 - estrutura e ocorrência 998
 - mecanismo de ação 998
 - toxicidade 998
- tevêtia 708
- tigliano, estrutura e ocorrência 912, 913
- timbó, constituinte 907
- timol 482, 488, 492
- tintura de ópio 386
- tintura
 - definição 308
 - gínco 388
- tipos botânicos, definição 222
- tirsiferóis, estrutura e ocorrência 1011
- titulometria 283
- toladulcina, estrutura 875
- tomate, constituinte 715, 870, 875, 877
- tomatidina
 - estrutura 716, 871, 875
 - ocorrência 715
- tomatina
 - atividade 881
 - estrutura 875
 - mecanismo de ação 881
 - ocorrência 870
- tomilho
 - monografia 492
 - origem geográfica 48
- topotecano
 - atividade 383, 787
 - estrutura 383
- topsentina, estrutura e ocorrência 1022
- tormentila, monografia 641
- toxicidade
 - ácido aristolóquico 249
 - ácido gincólico 388
 - ácido oxálico 964
 - ácidos graxos 964
 - alcalóides 96, 766, 787, 960
 - alcalóides esteroidais 869, 880
 - alcalóides indólicos 829
 - alcalóides pirrolizidínicos 847, 848, 859
 - alcalóides tropânicos 806, 978
 - alho 489, 755
 - aloe-emodina 670
 - amanita 947, 948
 - antério 962
 - aroeira 972
 - aroeira-brava 971
 - atropina 766
 - avaliação 290
 - ayahuasca 944
 - banana-de-macaco 962
 - beladonna 766, 787
 - bucha 976
 - cafeína 893
 - canela 489
 - campanha 940
 - charuto-do-rei 961
 - cicuta 766, 959
 - cipó-imbé 965
 - cipó-mil-homens 249
 - cocaina 814
 - cogumelos mágicos 930
 - colza 751
 - comigo-ninguém-pode 961, 962, 964
 - confrei 249, 348, 864
 - coniina 960
 - copo-de-leite 962, 965, 966
 - costela-de-adão 962, 965, 966
 - curare 766
 - dama-da-noite 977
 - dicumarol 544, 551
 - diterpenos 968
 - efedrina 936
 - clipticina 831
 - emodina 670
 - ergô 929
 - ergô-do-sorgo 929
 - ergotamina 834
 - escopolamina 978
 - esporão-de-centeio 832
 - estudos 291
 - pré-clínicos 960
 - crônica, procedimento 256
 - aguda, procedimento 256, 257
 - longo prazo, procedimento 257
 - subaguda 257
 - subcrônica, procedimento 257
 - estricnina 960

- eufórbia 962, 969
- fenchona 489
- flavonóides 608
- flor-de-papagaio 970
- frangulina 670
- funcho 489
- fotossensibilização 489
- furanocumarinas 548
- glicirrizina 727
- glicofrangulinas 670
- glicoproteínas 977
- glicosídeos cianogénicos 960, 975
- glicosinatos 745, 751
- heterosídeos cardioativos 700
- 16-hidróxi-forbol 967
- hiosciamina 978
- hordenina 936
- ibogaína 946
- jibóia 965, 966
- lectinas 973
- linamarina 975
- loroforina 936
- losna 487
- maconha 926
- mamona 960, 973
- mandioca-brava 975
- maria-mole 865
- mentofurano 491
- mescalina 935, 936
- miliamina 968
- monocrotalina 852
- mostarda 749
- muscimol 950
- necina 859
- nogueira 962, 967
- noz-vômica 838, 960
- óleo de bergamota 489
- óleo de ricino 459, 974
- óleo de tungue 967
- olivacina 831
- oxalato de cálcio 964
- peitote 936
- peiotina 936
- pimenteira-do-mato 960
- pinhão-de-purga 971
- pinhão-paraguaio 962
- piretróide 909
- produtos marinhos 997
- proteínas 971
- protoveratrina 878
- psilocibina 931
- psilocina 931
- pulegona 491
- quinonas 670
- rianodina 911
- ricina 960
- ricinina 974
- safrol 154
- sálvia 489
- sangue-de-boi 969
- saxitonina 998
- senecio 859
- senecionina 852, 866, 867
- solventes 314
- terebintina 489
- tetrodotoxina 998
- trevo 544, 551
- tubocurarina 766
- urochóis 972
- vincristina 842
- toxicidade aguda, ensaio 291
- toxicidade crônica, ensaio 291
- transcriptoma
 - análise 139
 - definição 138
- transformação genética 137
- trevo, monografia 550
- trevo-azedo 551
- trevo-de-cheiro-amarelo
 - constituente 550
 - toxicidade 544
- trevo-de-cheiro-branco 550
- tricina 577
- triglicerídeos
 - definição 436
 - elucidação estrutural 449
- trimetilpsoraleno 549
- trioxisaleno 549
- triptamina
 - biogênese 823
 - estrutura 822
 - ocorrência 819
- triquetina, estrutura e ocorrência 1022
- triterpeno pentacíclico 714
- triterpeno tetracíclico 714, 718
- triterpenos, ginkgo 388
- trombeteira
 - atividade 811
 - constituente 473
 - monografia 811
- tropacocaína, estrutura 801
- tropina
 - metabolismo vegetal 426
 - ocorrência 799
- tubocurarina
 - atividade 787
 - extração 782
 - protótipo 375, 377
 - toxicidade 766
- tujona

- estrutura 471
- toxicidade 489
- tungue
 - constituente 967
 - toxicidade 967
- tunioromos, estrutura e ocorrência 1031, 1032
- turbo-extração
 - definição 319
 - procedimento 319
- turbólise, definição 319
- tussilagem 867
- ubidecarenona, emprego farmacêutico 669
- ubiquinona, definição 663
- uluapalidos, estrutura e ocorrência 1001
- umbeliferona, estrutura 539
- umidade residual 230
- unha-de-cavalo 867
- unha-de-gato 117
- urochóis, estrutura e ocorrência 972
- usaramina 865
- uva-ursina
 - atividade 532
 - farmacopéia 329, 332
 - moagem 311
 - monografia 532
- uzarigenina 691
- vaganina, estrutura 874
- valeriana 329, 394
- valerina, estrutura 801
- validação
 - material vegetal 254
 - método analítico 269, 292
 - produto 261
 - protocolo 261
 - processo 292
- vanilina
 - emprego farmacêutico 529
 - estrutura 153
 - ocorrência 468, 526, 528
- varfarina 544
- variabilidade genética 36, 124
- vedelolactona
 - atividade 126, 127
 - cultivo biotecnológico 129, 136
 - estrutura 127
- veralcamina, estrutura 878
- veratramina, estrutura 878
- veratridina, estrutura 910
- vermelho-de-ratânia 640
- vetiver 473
- vimblastina
 - atividade 14, 380, 787, 820, 831, 842
 - biogênese 417, 823
 - emprego farmacêutico 842
 - estrutura 382, 841
 - mecanismo de ação 841
 - ocorrência 14, 381, 841
- vinca
 - atividade 381
 - constituente 379, 381, 382
 - emprego industrial 842
 - monografia 841
- vincristina
 - atividade 14, 380, 787, 820, 831, 842
 - biogênese 417, 823
 - emprego farmacêutico 842
 - estrutura 382, 841
 - mecanismo de ação 841
 - ocorrência 14, 381, 841
 - toxicidade 842
- vindesina 380, 382
- vindolina
 - biogênese 823
 - precursor químico 382
- vismiona
 - estabilidade 664
 - ocorrência 664
- visnadina 539, 550
- visnagina 550
- vitamina B, chá-da-índia 899
- vitaminas, erva-mate 897
- vitexina 577
- vogonina, atividade 603
- voltametria inversa 282
- xantiletina 539
- xantonas 537, 546
- xantotoxina
 - atividade 546, 550
 - estrutura 914
 - mecanismo de ação 914
 - ocorrência 546, 550
- xaropes
 - definição 308
 - procedimento 308
- xeniafilanos, estrutura e ocorrência 1025
- xenicanos, estrutura e ocorrência 1024
- xenobiótico, definição 248
- zimbó 332, 487
- zooantamina, estrutura e ocorrência 1028

ÍNDICE DE NOMES CIENTÍFICOS

- Aaptos aaptos* 1021
Abies 558
Abrus precatorius 982
Acacia adstringens 643
Acacia caffra 622
Acacia galpinii 622
Acacia mearnsii 633
Acacia senegal 504
Acacia 504
Acanthospermum australe 353
Acetobacter diazotrophicans 140
Acetobacter xylinum 500
Achillea millefolium 48, 58, 59, 290
Achyrocline alata 271
Achyrocline satureioides 49, 51, 56, 59, 62, 222, 265, 270, 271, 353, 603
Achyrocline vauhieriana 222, 271
Acokanthera ouabaio 706
Acokanthera 686
Aconitum 775
Acremonium uncinatum 848
Acronychia baueri 776
Adenium 686
Adonis aestivalis 709
Adonis vernalis 709
Adonis 686, 709
Aeolanthus suaveolens 112
Aeschron 909
Aesculus hippocastanum 723
Agaricus campestris 948
Agave 376, 718
Agelas oroides 1019
Agelas scepterum 1019
Agelas 1019
Ageratum conyzoides 59, 60, 353
Agrobacterium rhizogenes 134, 136, 137, 797
Agrobacterium tumefaciens 39, 137, 139
Agrobacterium 139
Ailanthus altissima 808
Ailanthus 909
Ajuga remota 906
Akebia quinata 723
Aleurites fordii 967-968
Alkanna tinctoria 668
Allamanda cathartica 980
Allium cepa 744
Allium porrum 744
Allium sativum 266, 286, 744, 752-755
Aloe africana 675-676
Aloe barbadensis 675-676
Aloe ferox 675-676
Aloe spicata 675-676
Aloe vera 675-676
Aloe 664
Aloysia citrodora 221, 223
Aloysia triphylla 221
Aloysia 221
Alpinia speciosa 49
Alpinia 472
Althaea officinalis 511-512
Amanita muscaria 921, 947-950
Amanita phalloides 573, 947
Amanita 947, 949
Amanthia convoluta 1029
Amanthia 1029
Amaroucium multiplicatum 1036
Amaryllis 779
Ammi majus 550
Ammi visnaga 537, 549-550
Anuni 550
Amphorogyne spicata 852
Anacardium occidentale 630
Anagallis arvensis 723
Angelica archangelica 550
Angelica pubescens 545
Anhalonium williamsii 933
Aniba 565
Anogeissus latifolia 504
Anthemis nobilis 222, 223
Anthemis 266
Anthurium 965
Aplidium pliciferum 1035
Aplysina 1014
Apocynum 686
Arachis hypogaea 377, 462
Araucaria angustifolia 66, 558
Archidoria 1040
Arctium lappa 59
Arctium minus 59
Arctostaphylos uva-ursi 532-533
Ariocarpus fissuratus 937
Ariocarpus retusus 937
Ariocarpus 937

- Aristolochia argentina* 778
Aristolochia 249, 348
Arnica chamissonis 274, 605
Arnica montana 274, 605
Artemisia absinthium 473
Artemisia annua 376
Artemisia californica 474
Artemisia scoparia 545
Asclepias curassavica 982
Asclepias 686
Asparagopsis 1009
Aspergillus flavus 277, 456
Aspergillus 881
Aspidosperma polyneuron 66
Aspidosperma quebracho-blanco 837
Aspidosperma 831
Astracantha gunmifera 504
Astragalus gummiifer 504
Astronium urundeuva 49, 339
Atropa acuminata 808
Atropa belladonna 137, 265, 376, 386, 773, 798, 807-809, 952
Atropa 378, 799, 807
Avicennia 658
Azadirachta indica 906, 912
Azadirachta 906
Baccharis articulata 353
Baccharis trimera 36, 49, 58, 65, 67, 353
Baccharis 48, 51, 59
Bacillus cereus 275
Bacillus macerans 503
Banisteria caapi 942
Banisteriopsis caapi 829, 941-944
Banisteriopsis inebrians 830, 941
Banisteriopsis 829, 941-944
Bauhinia forficata 49, 51, 54, 59, 60, 65, 66, 67
Bauhinia 48
Berberis 778
Beta vulgaris 723, 779
Betula pendula 724
Bidens pilosa 49
Bombyx mori 911
Bonnemaisonea 1009
Borago officinalis 852, 863-864
Bowdichia nitida 339
Bowdichia virgilioides 353
Brassica napus 461, 744, 745, 750-752
Brassica nigra 748-749
Brassica oleracea 744, 750-752
Brassica rapa 750-752
Brassica 746, 750-752, 823
Briareum 1025
Bromelia antiacantha 36
Brugmansia sanguinea 810
Brugmansia suaveolens 799, 811, 977-979
Brugmansia 473, 797, 798, 806, 810, 952, 978
Buddleja davidii 559
Bufo 686, 688
Bugula neritina 1002, 1029
Bupleurum chinense 723
Bupleurum falcatum 723
Buxus longifolia 879
Buxus 877, 878-880
Cacospongia 1016
Calendula arvensis 723
Calendula officinalis 48, 58, 59, 265, 490, 723, 730-731
Calendula 274
Calophyllum lanigenum 546
Calophyllum lankaensis 547
Camellia sinensis 528, 604, 630, 723, 899
Camellia thea 899
Camellia 887, 888, 889
Campiotheca acuminata 14, 382
Candida albicans 881
Cannabis indica 923
Cannabis ruderalis 923
Cannabis sativa 36, 923-928
Cannabis 923, 939
Capsicum annum 531
Capsicum 376, 529, 531-532
Carum carvi 490
Casearia sylvestris 54, 222, 353
Cassia acutifolia 221, 671
Cassia angustifolia 221, 302, 671
Cassia fistula 673
Cassia senna 221, 302, 671
Cassia 664
Castanea 633
Castanospermum australe 773, 774
Catharanthus roseus 14, 376, 376, 381, 405, 417, 767, 841-843
Catharanthus 379, 831, 840, 842
Caulerpa 1004
Cecropia 48, 67
Cedrela fissilis 66
Celastrus angulata 912
Centaurea cyanus 583
Centella asiatica 265, 721, 724, 731-732
Cephaelis acuminata 265
Cephaelis ipecacuanha 117, 124, 128, 265, 386, 701
Cephalodiscus gilchristi 1003
Ceratonia siliqua 505

- Cestrum calycinum* 473
Cestrum 875
Chamaemelum nobile 222, 223
Chamomilla recutita 48, 58, 59, 60, 61, 223, 265, 290, 490
Chenopodium ambrosioides 49
Chlorodesmis 1004
Chondrococcus 1009
Chondrodendron tomentosum 220, 376, 778
Chondrodendron 220, 378
Chondrus 501
Chorista speciosa 66
Chrysanthemum vulgare 474
Chrysanthemum 60, 906, 909
Chrysolina 686
Cichorium intybus 503
Cinchona ledgeriana 666
Cinchona pubescens 265
Cinchona 376, 378, 417, 668, 767, 776
Cinnamomum zeylanicum 265, 490, 528
Cinnamomum verum 265, 490, 528
Cissampelos pareira 52
Cissus sicyoides 112
Citrus aurantium 551
Citrus medica 551
Citrus 377, 551, 608
Cladosporium fulvum 881
Clavelina picta 1034
Clavelina 1034
Claviceps africana 929
Claviceps purpurea 768, 777, 819, 824, 832-835, 921, 928-929
Claviceps sorghi 929
Claviceps 378, 928
Clavularia 1025
Cliona 1018
Clostridium perfringens 275
Cnidium monnieri 546
Cochlospermum gossypium 504
Cocos nucifera 463
Coffea arabica 566, 780, 897-898
Coffea canephora 897-898
Coffea 887, 888
Cola acuminata 895
Cola nitida 265, 895
Cola verticillata 895
Cola 887
Colchicum autumnale 376, 386, 779
Conium maculatum 277, 774, 959, 980
Conocybe siligenoides 930
Conocybe 921, 931
Conospermum incurvum 657, 691
Convallaria majalis 708
Convallaria 686
Convolvulus 938
Copaifera langsdorffii 52, 117, 118, 353
Copernicia cerifera 464
Copernicia prunifera 377
Cordia verbenacea 49, 65, 67, 603
Coriandrum sativum 59, 475, 490
Coridothymus capitatus 478
Corynanthe yohimbe 836
Costus cuspidatus 339
Coxsackie 631
Crataegus laevigata 642-643
Crataegus monogyna 220, 642-643
Crataegus oxyacantha 642
Crataegus 642
Croton lechleri 117, 118
Croton tiglium 912
Croton 51
Cryptocarya moschata 66
Cryptomeria japonica 558
Cudrania tricuspidata 604
Culex pipiens 915
Cuphea carthagenensis 13, 36
Curcuma 472
Cyamopsis tetragonolobus 377, 504
Cymbopogon citratus 55, 58, 59, 223
Cymbopogon martini 129
Cymbopogon 472
Cynara scolymus 55, 58, 529-530
Cynoglossum officinale 864
Cystodistes dellechiaiei 1033
Cystophora 1006
Daphnopsis racemosa 982
Datura aurea 802
Datura candida 802
Datura ceratocaula 951
Datura fastuosa 810
Datura ferox 794
Datura innoxia 950, 951
Datura metel 810, 950, 952
Datura meteloides 951
Datura sanguinea 810
Datura stramonium 767, 794, 797, 798, 803, 809-811, 950-953
Datura suaveolens 811, 977
Datura 376, 473, 767, 798, 799, 806, 809, 810, 940, 950-953, 978
Delphinium geyeri 910
Dendrobium nobile 775
Dendrodoa grossularia 1034
Dercitus 769
Derris 906, 907

- Diazona chinensis* 1032
Dictamnus albus 775
Dictyota 1006
Didemnum candidum 1034, 1036
Didemnum chartaceum 1035
Didemnum 1032, 1033
Dieffenbachia picta 964-965
Dieffenbachia seguine 964-965
Dieffenbachia 961, 962, 964, 965
Digitalis lanata 376, 385, 695, 701, 702, 703-706
Digitalis purpurea 376, 701, 702, 703-706, 952
Digitalis 373, 378, 386, 685, 686, 701, 704, 707, 718
Dimorphandra mollis 643
Dimorphandra 643
Dioscorea macrostachya 147
Dioscorea 376, 718
Diplopterys cabrerana 942
Dipteryx odorata 537
Discodermia calyx 1020
Dolabella auricularia 1007
Dolichorus bidens 907
Dorstenia arifolia 339
Drosophila auraria 912
Drimys brasiliensis 79
Duboisia 799
Dysidea avara 1017
Dysidea herbacea 1017-1018
Dysidea 1017-1018
Echinacea 528
Echinodorus grandiflorus 52, 54
Echinodorus 67
Eclipta alba 126, 127, 128, 129, 136
Ecteinascidia turbinata 1002, 1035
Egletes viscosa 222
Eleutherococcus senticosus 721, 730
Elektaria cardamomum 490
Empoasca fabae 881
Encelia 915
Ephedra 79, 378, 777
Equisetum arvense 724
Equisetum giganteum 54, 353
Equisetum 866
Eruca sativa 745, 750-752
Eryngium planum L. 723
Erythroxylon coca 794, 799, 802, 812-814, 920
Erythroxylon novogranatense 794, 799, 812-814
Erythroxylon 378, 799, 813
Escherichia coli 40, 139, 279, 631
Eschscholzia californica 768
Eucalyptus camaldulensis 473
Eucalyptus fruticetorum 490
Eucalyptus globulus 265, 473, 490
Eucalyptus hemiphloia 569
Eucalyptus smithii 490
Eucalyptus 377, 482, 490
Eudistoma olivaceum 1034
Eugenia micheli 644
Eugenia uniflora 644-645
Eugenia 668
Eupatorium ayapana 863
Eupatorium dendroides 863
Eupatorium triplinerve 863
Euphorbia cotinifolia 969-970
Euphorbia milii 968-969, 970
Euphorbia pulcherrima 970-971
Euphorbia 968
Euterpe edulis 66, 67
Exogonium 938
Ficus carica 981
Flustra 1029
Foeniculum vulgare 48, 58, 59, 265, 418, 491-492
Fortunella 608
Frangula purshiana 673
Fritillaria 875
Fucus vesiculosus 78, 377, 501
Fucus 501
Fusarium caeruleum 881
Galium 668
Gambierdiscus toxicus 999
Garcinia hamburyi 547
Garcinia mangostana 547
Garveia annulata 1026
Gelidiella 501
Gelidium 501
Genipa americana 66
Gentiana lutea 265
Geranium 625
Gigartina 501
Ginkgo biloba 79, 80, 116, 220, 352, 385, 387, 388-389, 606, 608-609
Ginkgo 79, 220, 388, 389
Glycine max 36, 376, 461
Glycyrrhiza glabra 265, 723, 725-727
Gmelina leichardtii 569
Gnetum 79
Gonyaulax catenella 998
Gossypium hirsutum 36, 461
Gracilaria 501
Grindelia robusta 724
Guaiacum officinale 558, 569, 570-571

- Guaiacum sanctum* 570-571
Guazuma ulmifolia 352
Guettarda platypoda 723
Gymnema sylvestre 723
Gymnodinium breve 999
Gypsophylla 733
Halichondria okadae 1020
Haliclona 1021
Hamamelis virginiana 265, 638, 639-640
Hedera helix 723, 724, 982
Hedyosmum brasiliense 49, 66
Helianthus annuus 461, 540
Helianthus tuberosus 503
Helicobacter pylori 753
Heliopora 1023
Heliothis virescens 914
Heliothis zea 915
Helleborus niger 708-709
Helleborus 686
Helmintosporium carbonum 881
Helmintosporium dermatioideum 774
Hemileta vastatrix 566
Hemizonia fitchii 915
Hennecartia omphalandra 960
Herbaspirillum rubri 140
Herniaria glabra 724
Herpes simplex 631, 640
Herpes zoster 531
Herpetospermum caudigerum 558
Heteronema 1016
Heterotheca 274
Hexabranchus sanguineus 1000
Hinksinoftustra 1029
Hirudo medicinalis 40
Holarrhena antidysenterica 874
Humulus, 923
Hydrastis canadensis 265
Hydrocotyle asiatica 265, 731
Hydrocotyle vulgaris 723
Hydrocotyle 731
Hyoscyamus muticus 797, 799, 803, 811
Hyoscyamus niger 799, 803, 811-812, 952
Hyoscyamus reticulatus 811
Hypericum brasiliense 546
Hypericum perforatum 392-394, 547, 642, 701
Hypoxis hemerocallidea 57
Hyptis umbrosa 49, 65
Hyptis 952
Ianthella 1014
Ilex opaca 721
Ilex paraguariensis 528, 723, 897, 920
Ilex 887
Illicium verum 265, 418
Indigofera tinctoria 678
Ipomoea alba 940
Ipomoea batatas 940
Ipomoea cairica 568, 940
Ipomoea intrapilosa 940
Ipomoea murucoides 940
Ipomoea purga 938
Ipomoea purpurea 940
Ipomoea tricolor 938-941
Ipomoea violacea 938
Ipomoea 921, 938-941, 951
Ircinia 1016
Jatropha curcas 971
Juglans regia 666
Juniperus sabina 155, 558
Juniperus virginiana 155
Juniperus 79
Justicia pectoralis 353
Kalanchoe pinnata 352
Kielmeyera coriacea 559
Kigelia pinnata 667
Krameria argentea 640-641
Krameria interior 558
Krameria triandra 558, 640-641
Lactobacillus 499
Lamellaria 1035
Laminaria 500
Lantana camara 339, 980
Larix leptolepis 558
Larrea cuneifolia 566
Latrunculia 1021
Laurencia okamurae 1010
Laurencia thyrsifera 1010
Laurencia 1010
Laurus nobilis 36
Lavandula angustifolia 486
Lavandula x intermedia 486
Lawsonia inermis 678-679
Leishmania donovani 668
Leishmania 667
Leptinotarsa decemlineata 881
Leptochmides 1033
Leuconostoc mesenteroides 499
Leuconostoc 499
Licaria aurea 558
Licaria 565
Limonium brasiliense 219, 353
Limonium 219
Linum usitatissimum 460, 512-513
Lippia alba 36, 58, 223
Lippia graveolens 478
Lippia stoechadifolia 911

- Lippia triphylla* 221
Lippia 221
Lissoclinum bistratum 1036
Lissoclinum patella 1032
Lissoclinum perforatum 1035
Lissoclinum vareau 1035
Lithospermum erythrorhizon 668
Lithraea brasiliensis 971-973
Lithraea molleoides 971-973
Lithraea 973
Lobelia inflata 773, 774
Lobophyton 1024, 1025
Lonchocarpus 906, 907
Lophophora williamsii 417, 777, 932-938
Lophophora diffusa 933, 934
Lophophora 777, 933
Luffa acutangula 977
Luffa aegyptiaca 977
Luffa cylindrica 977
Luffa operculata 353, 976-977
Luffariella 1003
Lupinus luteus 773, 774
Lycopersicum esculentum 870, 875
Lycopersicum pimpinellifolium 876
Lycopersicum 875
Macrosiphum euphorbiae 881
Macrocyctis 500
Magnolia officinalis 566
Magnolia salicifolia 566
Malva sylvestris 59, 265, 512
Mammillaria heyderi 937
Mandevilla velutina 49
Mandragora officinalis 952
Mandragora 799
Manihot esculenta 975-976
Manihot 975
Matricaria chamomilla 223
Matricaria recutita 223, 265
Maytenus aquifolium 66, 129
Maytenus ilicifolia 13, 35, 49, 52, 59, 61, 64, 66, 117, 219, 220, 221, 290
Maytenus 35, 48, 220
Medicago sativa 723, 773
Melia azedarach 912, 981
Melilotus albus 550
Melilotus altissimus 550-551
Melilotus indicus 551
Melilotus officinalis 544, 550-551
Melilotus 378, 551
Melissa officinalis 48, 58, 59, 223, 490
Mentha aquatica 491
Mentha arvensis 129, 486, 491
Mentha longifolia 491
Mentha pulegium 912
Mentha rotundifolia 491
Mentha spicata 486, 491
Mentha x gracilis 486
Mentha x piperita 475, 486, 491
Mentha 58, 215, 270, 377
Merremia 938
Metasequoia glyptostroboides 558
Miconia 668
Mikania glomerata 49, 58, 59, 129, 290
Mikania laevigata 58
Mikania 48, 51, 67, 290
Mimosa barbadetima 643
Miraleria cymothoe 800
Monstera deliciosa 966
Morinda 668
Mundulea 906, 907
Murex 890
Mycobacterium tuberculosis 547
Myracrodruon urundeuva 66
Nasturtium officinale 750-752
Navanax 1041
Nectandra glabrescens 558
Nectandra 565
Nerium oleander 702, 707-708, 981
Nerium 686, 708
Nephtea 1024, 1025
Nicotiana glauca 961
Nicotiana tabacum 920
Nicotiana 774, 823, 906, 911
Nigella 772
Ochrosia 831
Ocimum basilicum 36, 59, 490
Ocimum gratissimum 59
Ocimum 58
Ocotea duckei 568
Ocotea odorifera 52, 151
Ocotea pretiosa 52, 66, 151
Ocotea 565
Odonthalia 1011
Oenothera 619
Oenothera tetraaptera 620
Olea europaea 377, 461-462, 569
Operculina 938
Opuntia 937
Origanum majorana 490
Origanum onites 478
Origanum vulgare 478, 490
Ormenis multicaulis 266, 286
Oryza sativa 128,
Osteophloeum platyspermum 558
Pachystroma ilicifolium 982
Pachystroma longifolium 982

- Packera candidissima* 866
Paeonia 616
Palicourea margravii 981
Palithoa toxica 1027
Panaeolus shinctrinus 930
Panaeolus 921
Panax ginseng 35, 134, 718, 721, 723, 723, 727-730
Panax japonicum 729, 730
Panax notoginseng 729
Panax pseudoginseng 729
Panax quinquefolium 35, 729, 730
Panax trifolium 730
Panax zingiberensis 730
Panax 722, 730
Papaver somniferum 376, 386, 777, 778
Papaver 129, 378, 386, 939
Parsonsia laevigata 852
Parsonsia 852
Paspalum 929
Passiflora alata 609
Passiflora edulis 60, 609
Passiflora incarnata 609
Passiflora 48, 609
Patrinia scabiosaeifolia 723
Paullinia cupana 118, 896, 920
Paullinia 887
Pausinystalia yohimbe 836-837
Pavetta owariensis 631
Peganum harmala 775, 776
Pelecyphora aselliformis 937
Peliodon radicans 49
Periandra dulcis 727
Periandra mediterranea 727
Peridroma saucia 915
Peschiera affinis 945
Petiveria alliacea 49
Petrosia 1021
Peumus boldus 265, 777
Pfaffia glomerata 730
Pfaffia paniculata 730
Pfaffia 730
Phaseolus vulgaris 36
Philodendron bipinnatifidum 965-966
Philodendron 962
Phycomyces 625
Phyllanthus niruri 352
Phyllanthus sellowianus 353
Phyllanthus 15
Physalis angulata 135
Physalis 135
Physostigma venenosum 376, 777, 835-836
Physostigma 378, 819
Phytolacca americana 808
Phytolacca dodecandra 722
Picchia 139
Picea 558, 569
Picrosma 909
Pilocarpus jaborandi 213, 339, 376, 386
Pilocarpus microphyllus 118, 213, 265
Pilocarpus 13-14, 213, 378, 779
Pimpinella anisum 265, 277, 418, 490
Pinus sylvestris 474
Pinus 79, 128, 377, 477, 489, 558, 569
Piper auritum 151
Piper cernuum 49, 54, 65, 66, 67
Piper cubeba 568
Piper futokadsura 566
Piper gaudichaudianum 65, 67
Piper hispidinervum 151
Piper cf. lhotzkyanum 65
Piper longum 151, 200
Piper methysticum 390-391
Piper tuberculatum 180, 182
Piper 67, 151, 180, 477
Pistacia lentiscus 721
Placidula euryanassa 799
Plagiorhegma dubium 568
Plakortis 1018
Plantago afra 511
Plantago ispaghula 511
Plantago lanceolata 266, 286
Plantago major 48, 49, 59, 528
Plantago ovata 511
Plantago psyllium 511
Plectranthus barbatius 58
Plectranthus 664
Plexaura homomalla 999
Plexaura 1000
Plocamium 1009
Plusia gamma 915
Podocarpus gracilior 912
Podocarpus spicatus 569
Podophyllum emodi 380, 569
Podophyllum hexandrum 380, 567, 568, 569-570
Podophyllum peltatum 155, 380, 569-570
Podophyllum sikkimensis 570
Podophyllum versipelle 570
Podophyllum 376, 380, 567, 569
Pogostemon cablin 486
Polemonium caeruleum 723
Polygala senega 724
Polygonum punctatum 353
Polysiphonia 1011
Porphyromonas gingivalis 630

- Potentilla erecta* 641-642
Pothomorphe umbellata 133
Poyandrocarpa 1036
Prianas 1021
Primula obconica 667
Primula veris 724
Primula 666
Procentrum lima 1020
Protium opacum 558
Prunus amygdalus 526
Prunus sellowii 983
Psathyrella 921
Pseudomonas aeruginosa 644
Pseudomonas 500
Pseudopterogorgia bipinata 1003
Psidium guajava 67, 617
Psilocybe aztecorum 930
Psilocybe caerulescens 930
Psilocybe mexicana 776, 829, 930-932
Psilocybe semilanceata 931
Psilocybe 921, 930-932
Psorospermum febrifugum 547
Psychotria carthagenensis 942
Psychotria ipecacuanha 117, 124, 125, 128, 265, 376, 386, 701, 779
Psychotria viridis 830, 941-944
Psychotria 116
Pterocladia 501
Pycnorhiza kurroo 721
Quassia amara 909
Quercus infectoria 616
Quercus stenophylla 617
Quercus 577, 633
Quillaja saponaria 724, 732-734
Raphanus sativus 750-752
Rauvolfia serpentina 386, 831, 839-841
Rauvolfia tetraphylla 839
Rauvolfia vomitoria 839
Rauvolfia 116, 282, 376, 378, 776, 839
Reniera sarai 1021
Rhamnus frangula 302, 674
Rhamnus purshiana 265, 277, 673-674
Rheum officinale 674-675
Rheum palmatum 674-675
Rheum raphaniticum 675
Rheum 675
Rhipocephalus 1004
Rhododendron indicum 980
Rhododendron molle 912
Rhodomela 1011
Rhus semialata 616
Rhus toxicodendron 972
Rhus 625, 972
Ricinus communis 459-460, 973-974
Ritterella rubra 1036
Rivea corymbosa 938
Robinia 577
Rollinia salicifolia 473
Rosmarinus officinalis 48, 54, 55, 58, 486, 487, 490
Rosmarinus 664
Roupellia grata 706
Rubia tinctorum 657
Rubia 668
Ruta graveolens 48, 112
Ryania 911
Sabatina 911
Saccharomyces cerevisiae 139
Saccharomyces 139
Saccharum officinarum 377
Salix alba 375
Salmonella typhimurum 608
Salvia leucophylla 474
Salvia officinalis 54, 58, 59, 490
Salvia 664, 952
Sambucus australis 53
Sanicula europaea 723
Sarcococca vagans 874
Sarcophyton 1024
Sassafras albidum 473
Schefflera octophylla 732
Schinopsis 633
Schinus molle 972, 973
Schinus terebinthifolius 972, 967
Schistozoma mansonii 567
Schizandra chinensis 566
Schizaphis graminum 906
Schoenocaulon officinale 881
Scilla maritima 707
Scindapsus aureus 966
Scindapsus pictus 966
Scoparia dulcis 49
Scopolia 799
Scutellaria baicalensis 602
Secale cereale 832, 929
Selaginella 604
Senecio brasiliensis 865-866
Senecio callosus 852
Senecio candidissimus 866
Senecio jacobaea 865-866
Senecio nemorensis 866
Senecio vulgaris 849, 865
Senecio 773, 848, 859, 865
Senna alexandrina 221, 265, 302, 385, 671-673
Senna auriculata 673

- Senna italica* 673
Senna 664, 672, 673
Sessibugula 1029
Silybum marianum 571-573
Silybum 572
Sinapis alba 748
Sinapis nigra 748
Sinularia 1024
Smilax 718, 724
Solandra 952
Solanum atropurpureum 983
Solanum capsicoideus 983
Solanum dulcamara 798
Solanum khasianum 882
Solanum laciniatum 882
Solanum melongena 798
Solanum pseudocapsicum 876
Solanum sisymbriifolium 983
Solanum tuberosum 218, 377, 798, 871, 876
Solanum viarum 983
Solanum 714, 718, 775, 798, 823, 870, 875, 877, 880
Solidago virgaurea 721
Sonchus oleraceus 353
Sorocea bonplandii 35
Spartium junceum 981
Spongia officinalis 1015
Spongia 1016
Staphylococcus aureus 547, 644
Statice brasiliensis 219
Steganotaenia araliacea 568
Stemona japonica 911
Stenocalyx micheli 644
Sterculia tomentosa 377, 504
Sterculia urens 504
Stevia rebaudiana 49, 377
Streptococcus mutans 629, 630
Streptococcus sobrinus 629, 630
Streptococcus 499
Strophanthus gratus 701, 702, 706
Strophanthus hispidus 702, 706
Strophanthus kome 702, 706
Strophanthus 376, 686
Stropharia cubensis 930
Stropharia 921
Strychnos nux-vomica 766, 837-838
Strychnos trinervis 49, 66
Strychnos 838
Stryphnodendron adstringens 643-644
Stryphnodendron barbadetiman 643
Stryphnodendron polyphyllum 643
Stryphnodendron 643
Symphytum asperum 864
Symphytum officinale 59, 249, 339, 348, 852, 864-865
Symphytum peregrinum 864
Symphytum $\times$ *uplandicum* 864
Syzygium aromaticum 418
Tabebuia avellanedae 49, 213, 676
Tabebuia cassinoides 66
Tabebuia heptaphylla 49, 213, 676-678
Tabebuia impetiginosa 117
Tabebuia 677
Tabernanthe iboga 944-946
Tabernaemontana affinis 945
Tabernaemontana catharinensis 132
Tabernaemontana sananho 945
Tabernaemontana 831
Tambje 1029
Tanacetum parthenium 603
Tanacetum vulgare 474
Taraxacum officinale 48, 503
Taxomyces andreanae 384
Taxus baccata 149, 384
Taxus brevifolia 14, 23, 36, 41, 149, 383
Taxus 41, 79, 149, 376
Tecoma 677
Tephrosia 906, 907
Terminalia 633
Tethya cripta 997
Tetrapanax papyriferum 723
Thaumatococcus daniellii 41
Thea sinensis 528, 723, 899
Theobroma cacao 377, 460-461, 622, 895-896
Theobroma 887, 895
Thevetia neriifolia 708
Thevetia peruviana 702, 708, 980
Thevetia 686, 690, 708
Thymus vulgaris 48, 492
Thymus zygis 492
Tillandsia usneoides 36
Topsentia 1022
Torresea acreana 339
Toxicodendron quercifolia 972
Toxicodendron 972
Trewia nudiflora 780
Trichocereus pachanoi 937
Trichoderma virile 881
Trichophyton 881
Trididemnum solidum 1001
Trigonella 718
Trikenetion 1022
Triticum aestivum 36
Triticum 577

- Trypanosoma cruzi* 667
Tsuga 633
Turbina corymbosa 938, 939, 940, 951
Tussilago farfara 866-867
Tylophora asthmatica 773
Udotea 1004
Uncaria tomentosa 117, 353
Uncaria 117
Urginea maritima 702, 707
Urginea scilla 707
Urginea 686
Valeriana officinalis 265, 775
Vanilla planifolia 526, 528
Veratrum album 709, 877, 881
Veratrum californicum 881
Veratrum oblongum 877
Veratrum viride 881
Veratrum 870, 875, 877, 878, 881, 911
Verbena citrodora 221
Verbena triphylla 221
Verbena 221
Vernonia polyanthes 49
Vetiveria 472
Viburnum 545
Vinca rosea 841
Vidalia 1011
Viola carinata 558
Viola surinamensis 566, 567
Viola 621
Vismia 664
Vitex 577
Welwitschia 79
Wilbrandia ebracteata 36
Wilbrandia verticillata 49
Wisteria sinensis 981
Xanthomonas campestris 500
Xenia 1024, 1025
Xestospongia 1021
Yucca 718, 721
Zantedeschia aethiopica 966-967
Zea mays 36, 218, 377, 866
Zigadenus 911
Zollernia ilicifolia 35
Zonaria 1006
Zooanthus 1028

AUTORES

ALEXANDRE MARIOT

Mestre em Recursos Genéticos Vegetais,
Universidade Federal de Santa Catarina
Núcleo de Pesquisas em Florestas Tropicais
Universidade Federal de Santa Catarina
Florianópolis, SC
e-mail: amariot@zipmail.com.br

ALEXANDRE TOSHIRICO CARDOSO TAKETA

Doutor em Ciências Naturais,
Universidade de Bonn (Alemanha)
Professor associado
Departamento de Farmácia
Faculdade de Química
Universidade Nacional Autônoma do México
Cidade do México, México
e-mail: taketa@correo.unam.mx

AMÉLIA TEREZINHA HENRIQUES

Doutora em Química de Produtos Naturais,
Universidade de Paris XI (França)
Professora adjunta
Faculdade de Farmácia
Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Porto Alegre - RS
e-mail: amelia@farmacia.ufrgs.br

ANTÔNIO JOSÉ LAPA

Doutor em Farmacologia e Livre-docente
em Farmacologia,
Escola Paulista de Medicina, São Paulo
Professor titular
Departamento de Farmacologia
Universidade Federal de São Paulo
São Paulo - SP
e-mail: ajlapa.farm@infar.epm.br

BERTA MARIA HEINZMANN

Doutora em Ciências Naturais,
Universidade de Bonn (Alemanha)
Professora adjunta
Departamento de Farmácia Industrial
Centro de Ciências da Saúde
Universidade Federal de Santa Maria
Santa Maria - RS
e-mail: hberta@ccs.ufsm.br

BRUNO EDGAR IRGANG

Doutor em Botânica,
Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Professor adjunto
Departamento de Botânica
Instituto de Biotecnologias
Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Porto Alegre - RS

CADEN SOUCCAR

Doutora em Ciências e Livre-docente
em Farmacologia,
Escola Paulista de Medicina, São Paulo
Professora adjunta
Departamento de Farmacologia
Universidade Federal de São Paulo
São Paulo - SP
e-mail: csouccar.farm@infar.epm.br

CARLOS ALBERTO MANSSOUR FRAGA

Doutor em Química Orgânica,
Universidade Federal do Rio de Janeiro
Professor adjunto
Faculdade de Farmácia
Universidade Federal do Rio de Janeiro
Rio de Janeiro - RJ
e-mail: cmfraga@pharma.ufrj.br

CESAR CORNÉLIO ANDREI

Doutor em Química de Produtos Naturais,
Universidade de São Paulo
Professor adjunto
Departamento de Química
Universidade Estadual de Londrina
Londrina - PR
e-mail: andrei@uel.br

CLÁUDIA MARIA OLIVEIRA SIMÕES

Doutora em Ciências Biológicas e da Saúde,
Universidade de Rennes I (França)
Professora titular
Departamento de Ciências Farmacêuticas
Centro de Ciências da Saúde
Universidade Federal de Santa Catarina
Florianópolis - SC
e-mail: claudias@reitoria.ufsc.br